



Pro gradu -tutkielma  
Materiaalitutkimuksen maisteriohjelma  
Fysiikka

**Selluloosamikrofibrillien ominaisuudet lauhkean ja trooppisen  
ilmastovyöhykkeen puulajeissa - Röntgensirontatutkimus**

Mira Viljanen  
17.5.2018

Ohjaaja: FT Patrik Ahvenainen

Tarkastajat: FT Patrik Ahvenainen  
Prof. Simo Huotari

HELSINGIN YLIOPISTO  
MATEMAATTIS-LUONNONTIETEELLINEN TIEDEKUNTA

PL 64 (Gustaf Hällströmin katu 2)  
00014 Helsingin yliopisto



Tiedekunta – Fakultet – Faculty Matemaattis-luonnontieteellinen		Koulutusohjelma – Utbildningsprogram – Degree programme Materiaalitutkimuksen maisteriohjelma	
Tekijä – Författare – Author Mira Viljanen			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Selluloosamikrofibrillien ominaisuudet lauhkean ja trooppisen ilmastovyöhykkeen puulajeissa – Röntgensirontatutkimus			
Työn laji – Arbetets art – Level Pro gradu		Aika– Datum – Month and year Toukokuu 2018	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 59
Tiivistelmä/Referat – Abstract <p>Puulajit, siemenkasvien (<i>Spermatophytae</i>) sukuun kuuluvina, jaotellaan tyypillisesti havu- ja lehtipuihin, joka noudattaa karkeasti jakoa paljassiemeniisiin (<i>Gymnosperms</i>) ja koppisiemenisiin (<i>Angiosperms</i>) kasveihin. Havu- ja lehtipuulajit eroavat toisistaan suuresti puusolukon rakenteellisten seikkojen ja sen sisältämien kemiallisten yhdisteiden suhteen.</p> <p>Maailmanlaajuisesti noin 10 000 puulajia on <i>Kansainvälisen suojeluliiton IUCN:n Punaisen listan</i> mukaan vaarantuneita, uhanalaisia tai erittäin uhanalaisia. Iso osa näistä puulajeista on trooppisella ja subtrooppisella ilmastovyöhykkeellä kasvavia lehtipuita, joiden määrä on vähentynyt suuren kysynnän ja laittomien hakkuiden seurauksena. Vaarantuneiden ja uhanalaisten puulajien suojelemiseksi ja luonnon monimuotoisuuden säilyttämiseksi on erittäin tärkeää löytää elinvoimaisia, ominaisuuksiltaan samankaltaisia puulajeja, jotka voisivat mahdollisesti tulevaisuudessa korvata liiaksi käytetyt puulajit.</p> <p>Selluloosa on maapallolla kaikkein yleisimmin esiintyvä polymeeri, joka muodostaa tukirakenteen kaikissa <i>Plantae</i>-suvun eliöissä. Puiden kuivamassasta noin 50 % koostuu selluloosasta ja loppuosan muodostavat hemiselluloosat (25 %), ligniini (20 %) ja uuteaineet (alle 5%), puulajista riippuen. Suurin osa puuaineksen sisältämästä selluloosasta, hemiselluloosasta ja ligniinistä on sitoutuneena solujen soluseinien rakenteisiin.</p> <p>Puusolukossa selluloosaketjut kerääntyvät osittain kiteisiksi kimpuiksi, mikrofibrilleiksi, jotka ovat kiertyneenä puun solukon soluseinien ympärille muodostaen kulman solun pituussuuntaisen akselin kanssa. Tämä kulma tunnetaan mikrofibrillikulmana (<i>Microfibril Angle, MFA</i>). MFA:n on aiempien tutkimusten perusteella osoitettu olevan tärkeä tekijä mikrofibrillien kiteisyyden ohella puun mekaanisten ominaisuuksien selittäjänä. Mikrofibrillien orientaatiota ja kiteisyyttä havupuiden solukossa on tutkittu paljon, mutta lehtipuille ja erityisesti trooppisille lehtipuille vastaavaa kansainvälistä tutkimusta ei ole juurikaan tehty.</p> <p>Tässä opinnäytetyössä tutkittiin lauhkean ja trooppisen ilmastovyöhykkeen havu- ja lehtipuiden soluseinän selluloosamikrofibrillien ominaisuuksia laajakulmaröntgensirontan avulla. Osa tutkituista, trooppisista puulajeista on vaarantuneita ja uhanalaisia. Puista tutkittuja parametreja olivat selluloosamikrofibrillien keskimääräinen mikrofibrillikulma, kiteisyysaste ja kidekoko yhteensä kahdeksassatoista eri havu- ja lehtipuulajissa. Lisäksi sirontakuvioiden sisältämistä ylimääräisistä heijastuksista arvioitiin trooppisten lehtipuiden sisältämien epäorgaanisten, kiteisten uuteaineiden tyyppejä.</p> <p>Lauhkean vyöhykkeen havu- ja lehtipuulajeille mikrofibrillikulman ja kiteisyyden keskiarvoiksi saatiin <math>12,8 \pm 3,7^\circ</math> ja <math>24,8 \pm 2,6\%</math>, ja <math>14,7 \pm 5,1^\circ</math> ja <math>30,1 \pm 2,8\%</math>. Trooppisen vyöhykkeen lehtipuille keskimääräisen mikrofibrillikulman arvoksi mitattiin <math>12,7 \pm 4,7^\circ</math> ja kiteisyydeksi <math>27,7 \pm 4,1\%</math>. Kidekoko oli kaikille puulajeille lähes identtinen ja suuruudeltaan noin <math>29,7 \pm 1,5 \text{ Å}</math>. Tilastollisesti merkittäviä eroja lauhkean ja trooppisen vyöhykkeen puulajien välillä havaittiin kiteisyydessä, mutta ei mikrofibrillikulman tai kidekokojen osalta. Trooppisten lehtipuiden sisältämät, todennäköisimmät epäorgaaniset uuteaineet sirontakuvien perusteella olivat kiteinen kalsiumoksalaatti <math>\text{CaC}_2\text{O}_4</math> ja kalsiumkarbonaatti <math>\text{CaCO}_3</math>.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Röntgensironta, selluloosa, mikrofibrilli, havu- ja lehtipuut, uuteaineet			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Kumpulan tiedekirjasto			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

## Sisällysluettelo

1. Johdanto .....	3
2. Materiaalina puu .....	5
2.2 Solutason rakenne .....	7
2.3 Havupuiden solurakenne .....	8
2.4 Lehtipuiden solurakenne .....	10
2.5 Soluseinän rakenne .....	11
2.5.1 Selluloosa .....	12
2.5.1.1 Selluloosa mikrofibrillit ja mikrofibrillikulma (MFA) .....	13
2.5.2 Hemiselluloosa .....	15
2.5.3 Ligniini .....	15
2.5.4 Muut aineet .....	15
3. Teoria .....	17
3.1 Kiinteän aineen rakenne .....	17
3.1.1 Kiderakenne .....	17
3.1.2 Bravais'n hila .....	18
3.1.3 Millerin indeksit .....	18
3.1.4 Käänteishila .....	19
3.2 Röntgensäteily ja materia .....	19
3.2.1 Röntgensäteily .....	19
3.2.2 Elastinen sironta .....	20
3.2.3 Braggin laki .....	21
3.2.4 Absorptio .....	22
3.2.5 Röntgenlaajakulmasironta .....	22
3.2.5.1 Kidekoko .....	24
3.2.5.2 Kiteisen selluloosan osuus .....	24
3.2.5.3 Mikrofibrillikulma .....	25
4. Näytteet ja mittaukset .....	26
4.1 Näytteet .....	26
4.1.1 Puulajit .....	26
4.1.2 Näytteiden valmistus .....	26
4.2 Mittalaitteisto .....	28
4.2.1 Laajakulmasironta .....	28
4.3 Mittaukset ja tulosten analysointi .....	29

4.3.1 Muun säteilytaustan vähentäminen mittaustuloksista.....	29
4.3.1 Kiteisyys ja kidekoko.....	29
4.3.2 Mikrofi brillikulma .....	30
4.3.3 Trooppisten puiden uuteaineet.....	31
5. Tulokset .....	32
5.1 Mikrofi brillikulma .....	33
5.2 Kiteisyys ja kidekoko.....	36
5.3 Trooppisten lehtipuiden epäorgaaniset uuteaineet .....	36
6. Tulosten käsittely ja pohdintaa .....	38
7. Yhteenveto ja johtopäätökset .....	43
7.1 Mahdolliset jatkotutkimukset .....	43
8. Lähteet ja kirjallisuus .....	45
9. Liitteet.....	51

## 1. Johdanto

Selluloosa on maapallolla kaikkein yleisimmin esiintyvä polymeeri, joka muodostaa tukirakenteen kaikille *Plantae*-sukuun kuuluville eliöille. Puissa selluloosaa on keskimäärin 50%, joka antaa niille ominaisen kovuuden ja kestävyuden [1]. Suomessa kemiallinen metsäteollisuus eli paperin, kartongin ja sellun tuotanto sahateollisuuden ohella muodostavat isoimman osan metsäteollisuudesta, joka kokonaisuutena vastaa noin 20 % viennistä [2] ja 10% puutavaran maailmanlaajuisesta kaupasta [3]. Kotimaisista puulajeista kuusi (*Picea abies*), koivut (*Betula pubescens* ja *Betula pendula*) ja tärkeimpänä mänty (*Pinus sylvestris*) muodostavat metsäteollisuuden perustan.

Globaalisti puulajeja on arvioitu olevan hieman yli 60 000, joista suurin osa kasvaa trooppisilla ja subtrooppisilla ilmastovyöhykkeillä [4]. Suurimman osan tunnistetuista puulajeista muodostavat lehtipuut, joista on identifioitu ainakin 30 000 - 35 000 lajia. Havupuulajeja on tunnistettu arviolta noin 1000.

Maailmanlaajuisesti puulajeista noin 9500 löytyy *Kansainvälisen suojeluliiton IUCN:n (International Union for Conservation of Nature)* Punaiselta listalta, joista noin 6400 on vaarantuneita, uhanalaisia tai erittäin uhanalaisia [5] [6]. Kaikista havupuulajeista noin 34% on vaarantuneita, uhanalaisia tai erittäin uhanalaisia [7]. Vastaavaa lukuarvoa lehtipuille ei ole määritetty, mutta arvioiden mukaan jopa kolmasosa kaikista *Angiosperm*-alakaariin kuuluvista kasveista (sisältäen kaikki lehtipuulajit) olisi vaarantuneita, uhanalaisia tai erittäin uhanalaisia [8].

Uhanalaisten eläin- ja kasvilajien kansainvälistä kauppaa rajoitetaan CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) -yleissopimuksella [9], jonka allekirjoittaneet valtiot voivat säädellä uhanalaisten eliölajien tuontia ja vientiä. Uhanalaiset eliölajit luokitellaan kolmelle liitteelle (*Appendix I-III*), jotka rajoittavat niiden kauppaa tai kieltävät sen kokonaan. Vuosittain liitteille lisätään uusia lajeja, ja esimerkiksi viime vuonna (2017) listalle lisättiin yhteensä yli 10 *Diospyros*, *Guibourtia* ja *Dalbergia* -sukujen puulajeja [10]. Erityisesti Intianpalisanteri (*Dalbergia latifolia*) lähes kaikkien muiden palisanterien ohella on IUCN:n luokituksen mukaan vaarantunut korkean kysynnän ja laittomien hakkuiden seurauksena [11]. Palisanterit ja monet muut trooppiset puulajit ovat kaupallisesti haluttua materiaalia soitinrakennuspuina ja erityisesti huonekaluteollisuuden raaka-aineena, jonka takia niistä saatavaa puutavaraa viedään suuria määriä Kiinaan, Yhdysvaltoihin ja Eurooppaan [12] [13].

Havu- ja lehtipuulajit eroavat toisistaan suuresti rakenteellisten seikkojen ja puuaineen sisältämien kemiallisten yhdisteiden suhteen. Lajienvälisen variaation lisäksi puuaineen kemiallinen koostumus vaihtelee suuresti lajien sisällä puun kasvuympäristöön liittyvien tekijöiden, kuten sääolojen, vallitsevan lämpötilan ja maaperän vuoksi [14] [15].

Puuaines on solurakenteeltaan anisotrooppista, jossa eri solutyypit ottavat vaihtelevasti osaa puun tukirakenteen ja vesikierron ylläpitoon. Tukirakenteen kannalta merkityksellisiä seikkoja on lisäksi

soluseinien rakenne ja selluloosapitoisuus. Kasvien soluseinissä selluloosa esiintyy pääsääntöisesti selluloosamolekyylien muodostamina moniketjuisina kimppuina, mikrofibrilleinä. Näiden mikrofibrillien ominaisuuksista kiteisyysaste ja orientaatio soluseinässä ovat merkittäviä tekijöitä kasvien tukirakenteen kannalta, ja niiden on osoitettu vaikuttavan esimerkiksi puiden mekaanisiin ominaisuuksiin [16] [17].

Röntgensäteilyä on käytetty materiaalitutkimuksen välineenä jo vuosisadan ajan ja esimerkiksi selluloosan kiderakennetta ja kiteisyyttä on tutkittu röntgensironnan menetelmin ensimmäisen kerran jo 1930-luvulla [18]. Röntgensäteilyn aallonpituus vastaa nanokokoluokan rakenteiden kokoa, jonka vuoksi sen avulla on mahdollista saada informaatiota tutkittavan materiaalin kiderakenteen parametreista, joihin ei muilla menetelmillä päästä käsiksi. Röntgensäteiden sirontailmiöön perustuvia, ei-destruktiivisia mittaamenetelmiä ovat esimerkiksi röntgenpienkulma- ja laajakulmasironta (SAXS ja WAXS), joista jälkimmäistä käytettiin myös tässä tutkimuksessa. Esimerkiksi yksi ihmiskunnan merkittävimmistä löydöksistä, DNA-molekyylin kaksoiskierrerakenne, selvitettiin röntgensironnan avulla Rosalind Franklinin toimesta 1950-luvulla.

Tässä työssä tutkittiin kahdeksantoista havu- ja lehtipuulajin soluseinien selluloosamikrofibrillien ominaisuuksia röntgendiffraktion avulla. Osa tutkimuksessa mukana olleista, trooppisista puulajeista on määritelty uhanalaisiksi, esimerkkinä mahonki, palisanterit ja eebenpuut. Kyseisiä puulajeja käytetään laajalti esimerkiksi huonekalujen ja soittimien raaka-aineena. Tämä on osaltaan vaikuttanut kyseisten puulajien hakkuiden lisääntymiseen ja puuyksilöiden vähentymiseen maapallolta. Tutkimalla näiden puiden mekaanisia ominaisuuksia yhdessä puun soluseinän selluloosamikrofibrillien kiteisyyden ja mikrofibrillikulman kanssa, ja vertaamalla niitä elinvoimaisten puulajien vastaaviin, on mahdollista löytää samankaltaisia puulajeja käytettäväksi korvikkeena eri tuotteissa.

## 2. Materiaalina puu

Puulajit kuuluvat siemenkasveihin (*Spermatophytae*), jotka voidaan karkeasti jakaa koppisiemenisiin (*Angiosperms*) ja paljassiemeneisiin (*Gymnosperms*) puukasveihin, yleisemmin lehti – ja havupuihin.

Koppisiemeniset kasvit tuottavat siemeniä umpinaiseen sikiäimeen, useimmiten hedelmään tai marjaan, kun taas paljassiemeneiset tuottavat siemeniä emilehtien pinnalle, esimerkkinä havupuiden kävyt.

Poikkeuksina jotkin puulajit, kuten esimerkiksi Neidonhiuspuu (*Ginkgo biloba*), joka paljassiemeneisiin kasveihin kuuluvana lajina tuottaa kuitenkin siemenellisiä hedelmiä [19]. Tässä tutkimuksessa käsiteltävät puulajit kuitenkin noudattavat selkeää jakoa havu- ja lehtipuihin, joten tämä jaottelumallin käyttö on aiheellista.

Lehti- ja havupuiden välillä puuanatomiassa (ksylotomia) on selkeitä eroja, jotka helpottavat eri puulajien tunnistusta ja lajittelua, joista esimerkkinä vain lehtipuiden puusolukossa esiintyvät putkilot.

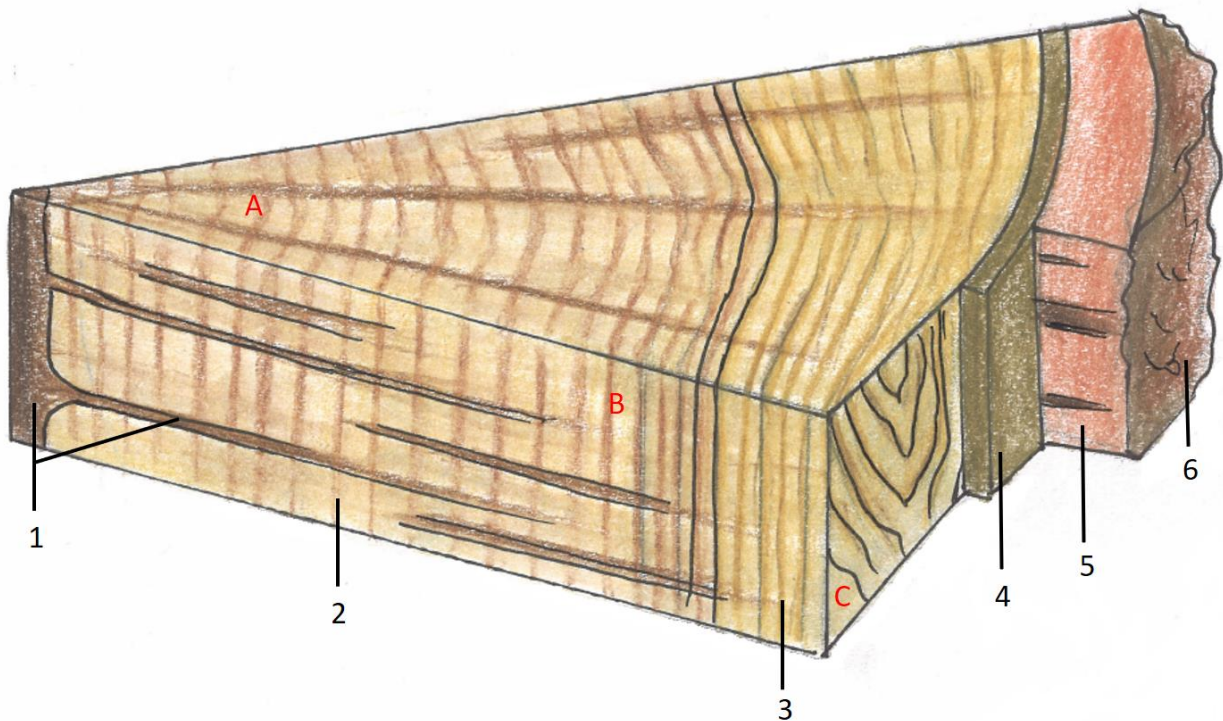
### 2.1 Makroskooppinen rakenne

Puun runko, oksat ja juuret rakentuvat ytimestä, sitä ympäröivästä puuaineksesta, jälsistä, nilasolukosta ja uloimpana puuta suojaavasta kaarnasta tai korkkikuoresta (kuva 1). Jälsi ohjaa puun paksuuskasvua ja vastaa puun vuosirenkaiden muodostumisesta. Puun pituuskasvun saa aikaan kärkikasvusolukko. Vuosirenkaat eli vuosilustot muodostuvat kevät- eli varhaispuusta ja kesä- eli myöhäispuusta. Varhaispuun ja myöhäispuun solukon erilaisuus aiheuttaa vuosirenkaiden selvärajaisuuden. Keväällä kasvukauden alussa muodostuva varhaispuu on solukoltaan harvempaa ja sen kasvu on nopeaa. Kesällä kasvukauden päättyessä, puusolukon jakaantuminen hidastuu ja se muodostaa myöhäispuuta. Vuosirenkaiden paksuus ja selvärajaisuus riippuvat kasvuolosuhteista ja kasvun kannalta epäsuotuisina vuosina vuosiluston muodostuminen saattaa jäädä puutteelliseksi. Vuosirenkaat eivät ole yhtä selvärajaisia puun juuristossa verrattuna sen runkoon tai oksiin. Havupuissa muodostuvat vuosirenkaiden varhais- ja myöhäispuun havaitseminen on usein helpompaa kuin lehtipuissa [20], sillä lehtipuissa kuitujen koko ei oleellisesti muutu varhais- ja myöhäispuun välillä [21]. Riippuen lehtipuulajista, putkiloiden sijainti ja koko saattavat muuttua varhaispuusta myöhäispuuhun siirryttäessä, mutta esimerkiksi monien trooppisten lehtipuiden tapauksessa putkilot ovat usein tasaisesti jakautuneita puusolukossa eikä varsinaista silmämääräisesti havaittavaa varhais- ja myöhäispuun rajaa muodostu [21].

Vuosirenkaiden lisäksi puun poikkileikkauksessa on usein silmämääräisesti erotettavissa tummempi sisäosa, sydänpuu ja vaaleampi ulko-osa, pintapu eli manto (kuva 1). Sydänpuu on pääasiallisesti kuollutta puusolukkoa, jonne on varastoitunut puulajista riippuen erilaisia yhdisteitä ja kivennäisaineita, kuten esimerkiksi hartsi- ja parkkiyhdisteitä [22]. Sydänpuun yhdisteet antavat sille ominaisen tumman värin ja lisäksi usein suojaavat sitä lahoamiselta ja tuholaisilta [1]. Manto koostuu pääasiallisesti nuoresta, osaksi

elävästä puusolukosta, jonka tehtävänä on veden varastointi ja kuljetus puun sisällä. Manto on usein sydänpuuta kosteampaa.

Puun makroskooppinen rakenne tulee usein parhaiten esiin tarkastellessa rungosta leikatun siivun eri leikkauspintoja (kuva 1). Leikkauspinnoista puhuttaessa yleensä tarkoitetaan kolmea eri pintaa: poikkileikkauspintaa, säteen- tai tangentin suuntaista leikkauspintaa, joista voidaan usean puulajin tapauksessa erottaa vuosirenkaat sekä sydän- ja pintapuu. Tässä tutkimuksessa röntgensäteet kohdistettiin tangentin suuntaiselle leikkauspinnalle kohtisuoran mittausgeometrian takia. Tällöin puun ksyleemin solut ovat pääsääntöisesti kohtisuorassa näytteeseen kohdistettujen röntgensäteiden suhteen, ja selluloosakiteiden orientaatio on sellainen, että diffraktiolle otollisia kidetasoja on runsaasti.



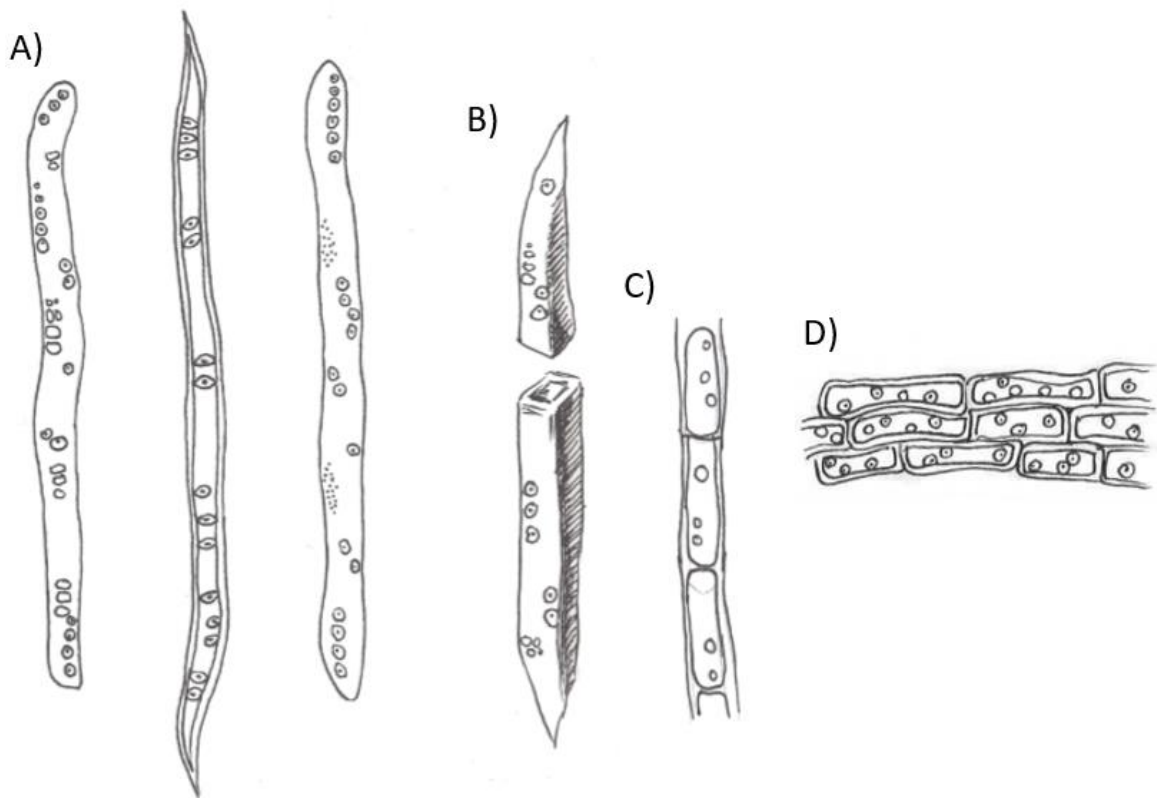
Kuva 1. Puun rakenne 1-6 ja poikkileikkauspinnat A, B, C. 1. Ydin ja puusolukkoa halkovat ydinsäteet, 2. Sydänpuu, 3. Pintapuu, 4. Jälsi, 5. Nilasolukko, 6. Korkkikuori tai kaarna. Puun poikkileikkauspinta A, säteensuuntainen leikkauspinta B ja pinnansuuntainen (tangentialinen) leikkauspinta C.



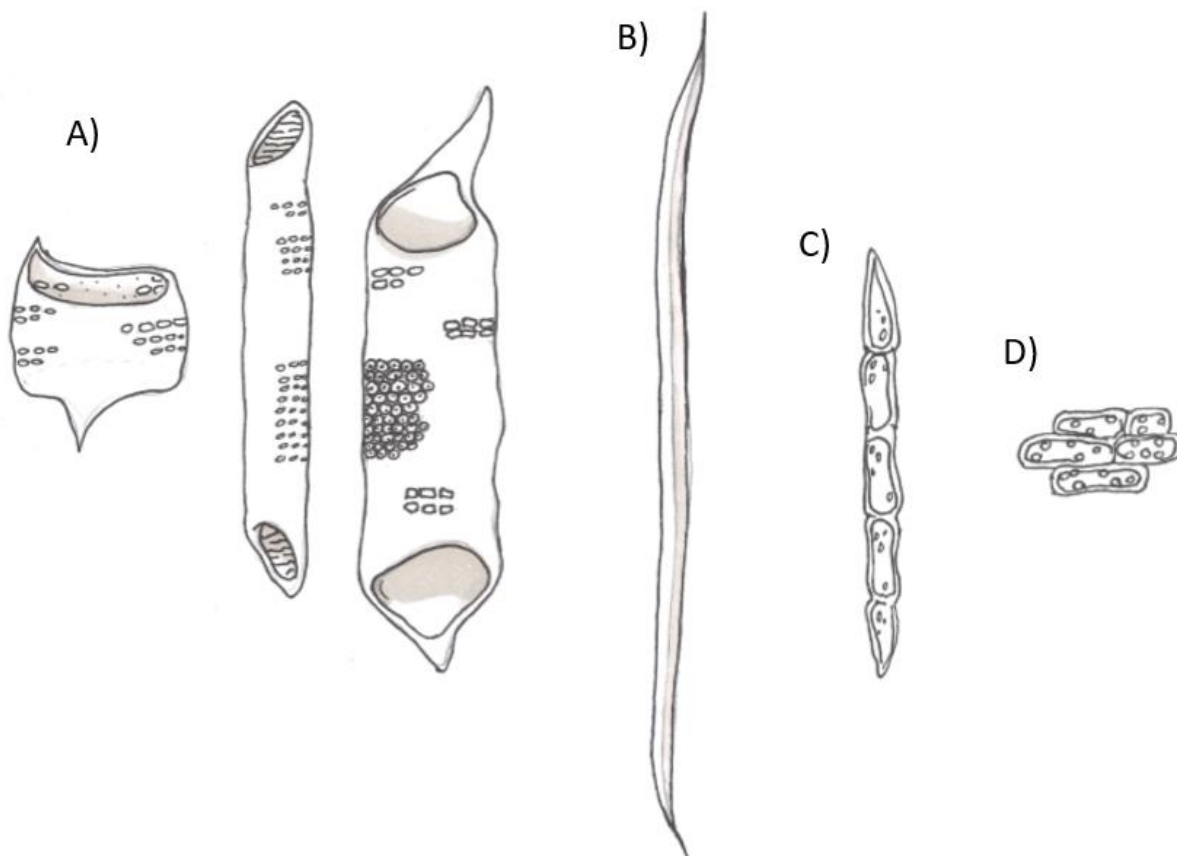
## 2.2 Solutason rakenne

Varsinainen puuaines eli ksyleemi koostuu johtosolukosta, jonka tarkoituksena on veden ja ravintoaineiden kuljetus ja varastointi. Johtosolukkoa risteävät ytimestä nilaan jatkuvat ydinsäteen solut, joiden kautta fotosynteesin tuotteet kulkeutuvat nilasta ytimeen ja vastavuoroisesti vesi puuaineksesta nilaan. Ydinsäteen solut näkyvät puun eri leikkauspinnoilla ja esimerkiksi säteensuuntaisella leikkauspinnalla ydinsäteet ovat puulajista riippuen selkeästi erotettavissa.

Ksyleemin muodostavat neljä eri solutyyppiä yhdessä: johtosolut eli trakeidit ja putkilon solut, tukisolut eli puusyyt, varastosolut ja eritesolut. Nämä solut voidaan edelleen jakaa muotonsa perusteella pitkiin ja päistään suippoihin prosenkyyimisoluihin (suippusolut) ja lyhyisiin ja tylppäpäisiin parenkyymisoluihin (tylppysolut) [22]. Esimerkkejä erilaisista solutyypeistä on esitetty kuvissa 2 ja 3.



Kuva 2. Esimerkkejä havupuiden ksyleemin solutyypeistä. A) Erilaisia trakeideja, joiden neliskulmaista muotoa hahmoteltu B) :ssä. C) Pitkittäisiä parenkyymisoluja ja D) säteensuuntaisia parenkyymisoluja. Kirjan [24] pohjalta tehdyt kuvitukset.



Kuva 3. Esimerkkejä lehtipuiden solutyypeistä. A) Erityyppisiä putkilon soluja, B) Puusyy, C) pitkittäinen parenkymisolua ja D) säteensuuntainen parenkymisolua. Kirjan [24] pohjalta tehdyt kuvitukset.

Tuki- ja johtosolut vastaavat muodoltaan useimmiten prosenkymisolua, kun taas varasto- ja eritesolut muistuttavat parenkymisolua.

Solujen määrä ja laatu myötäilevät usein puiden jakoa havu- ja lehtipuihin. Esimerkiksi eritesoluja esiintyy pääsääntöisesti havupuissa. Havu- ja lehtipuiden puusolukkoja on esitelty tarkemmin kappaleissa 2.3 ja 2.4. Puun ksyleemissä voi olla myös reaktiupuuta eli suuntaisolutta, jota puu muodostaa korjataksaan virheasentoon kasvanutta runkoa tai oksaa. Havupuihin muodostunut reaktiopuu tunnetaan kompressiupuuna ja lehtipuiden tapauksessa vastaavasti vetopuuna [22]. Reaktiupuun solukko eroaa normaalipuusta rakenteensa ja selluloosapitoisuutensa puolesta, ja esimerkiksi havupuissa kompressiupuun trakeidien soluseinien  $S_3$ -kerros saattaa puuttua kokonaan [24]. Lehtipuissa vastaavasti vetopuun kuitujen soluseinät ovat normaalia paksumpia niihin kehittyvän gelatiinimaisen kerroksen (G-kerros) takia, ja sisältävät suuria määriä lähes täysin kiteistä selluloosaa [25].

### 2.3 Havupuiden solurakenne

Havupuiden puusolukko on yksinkertaista ja koostuu kahdesta solutyypistä: trakeideista ja parenkymisoluista (kuva 2). Näiden lisäksi solukossa on usein epiteelisoluja, jotka kasvavat pihkatiehyiden ympärillä ja vastaavat pihkantuottamisesta. Suurimman osan havupuiden ksyleemistä muodostavat trakeidit,

joita on usein noin 90-95% solukosta. Trakeidit johtosolukkona huolehtivat vedenkuljetuksesta puun sisällä ja lisäksi vastaavat puun mekaanisesta lujuudesta [24]. Loput 5-10% ksyleemistä muodostavat parenkyymisolut, joiden tehtävä on varastoida ja kuljettaa ravinteita puun mannessa. Parenkyymisolut yhdessä parenkyymisolumaisten trakeidien kanssa muodostavat havupuiden ksyleemin ydinsäteet, jotka kulkevat kohtisuorassa johtosolukkoon nähden. Parenkyymisolut ovat lyhyitä ja pyöreitä ja niiden pituus vaihtelee usein 10-20 mikrometrin väliltä, paksuuden ollessa noin puolet pituudesta. Koollisesti parenkyymisolut jäävät yleisesti pienemmiksi kuin trakeidit. Trakeidien pituus on keskimäärin 1-5 millimetriä ja paksuus noin 15-80 mikrometriä, vaihdellen varhais- ja myöhäispuun mukana kasvuolosuhteiden puitteissa. Varhaispuun trakeidit ovat useimmiten lyhyempiä ja soluseiniltään ohuempia verrattuna myöhäispuun trakeideihin. Trakeidien soluseinä koostuu selluloosan ja hemiselluloosan lisäksi ligniinistä, joka aiheuttaa trakeidien puutumisen.

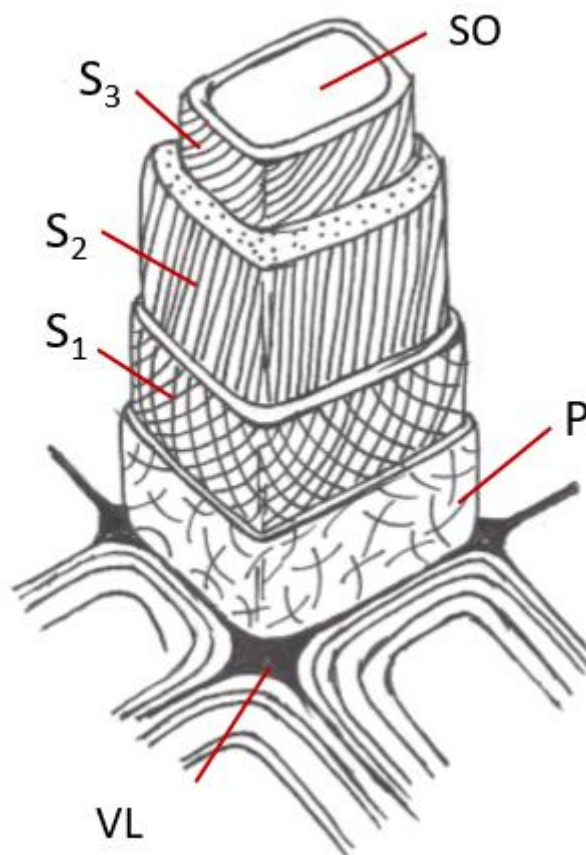
## 2.4 Lehtipuiden solurakenne

Lehtipuiden puusolukko koostuu pääasiallisesti varastosoluista, putkilon soluista sekä varsinaisista tukisoluista eli puusyistä. Putkilon solut ovat ominaisia vain lehtipuille, jossa ne toimivat vettä johtavana solukkona. Lehtipuiden ksyleemissä voi lisäksi olla trakeideja, jotka jakaantuvat kolmeen erilaiseen tyyppiin riippuen trakeidin tehtävästä ja paikasta solukossa. Kuitutrakeidit yhdessä puusyiden kanssa muodostavat kuituja ja toimivat ksyleemissä tukisoluina. Kuidut muodostavat lehtipuiden puusolukosta noin 55% [25]. Kahta muuta trakeidityyppiä kutsutaan putkilosolumaisiksi ja putkilokeskeisiksi soluiksi, jotka putkilon solujen ohella toimivat johtosoluina. Putkilot muodostavat noin 30 % puun solukosta [25]. Putkilon solut ovat pitkiä ja läpimitaltaan selkeästi suurempia kuin lehtipuiden ksyleemin muut solut ja erottuvat helposti esimerkiksi vaahterasta otetussa tomografiakuvassa (liitteet, kuva 17). Putkiloiden koko vaihtelee puulajien eri puulajien mukana, esimerkiksi tammella niiden läpimitta saattaa olla jopa 400 µm, kun kotipihlajalla vain alle 50 µm [22]. Lehtipuiden putkiloihin saattaa syntyä tyllejä (tylosis), jotka muodostuvat, kun putkiloa ympäröivän parenkymisolukko kasvaa osittain putkilon sisälle [1]. Ksyleemissä olevien putkiloiden koon ja tiheyden perusteella lehtipuut voidaan jakaa sykloporisiin (kehäputkiloiset) ja diffuusisiin (hajaputkiloiset) lehtipuihin [22]. Selkeimmin putkiloiden määrän näkee puun poikkileikkauspinnalta (kuva 17). Sykloporisten lehtipuiden putkiloiden koko ja tiheys vaihtelevat varhais- ja myöhäispuun mukana suurista ja tiheästi olevista pienempiin ja harvakseltaan oleviin putkiloihin. Diffuusisten lehtipuiden putkiloiden koko ja jakaantuneisuus ovat homogeenisiä läpi varhais- ja myöhäispuun.

Havupuista poiketen, lehtipuiden ydinsäteet koostuvat usein yhdenmuotoisista parenkymisolusta. Puissa voi kuitenkin olla myös toista, lehtipuille tyypillistä ydinsätetyyppiä, jossa ydinsäteen ala- ja yläosan solut ovat eri muotoisia suhteessa keskellä oleviin soluihin. Osalla lehtipuista on vain yhdenlaisia ydinsäteitä, jonka vuoksi ydinsädetyypin määrittäminen on mahdollinen tunnistuskeino puulajin selvittämiseksi. Ydinsäteitä on keskimäärin lehtipuiden ksyleemistä noin 15 -20 % [25].

## 2.5 Soluseinän rakenne

Puun mekaaniset ominaisuudet määräytyvät pääsääntöisesti eri solutyypin soluseinän koostumuksen ja rakenteen perusteella. Erityisesti havupuissa trakeidit soluseinineen vastaavat puuaineksen lujuudesta. Soluseinät muodostuvat eri kerroksista ja niiden lukumäärä ja koostumus vaihtelevat eri solutyypin mukaan. Keskimääräistä soluseinärakennetta on esitelty kuvassa 4. Yleisin soluseinärakenne on kaksikerroksinen, uloimpana primääriseinä ja soluontelon puolella sekundääriseinä. Sekundääriseinän voidaan lisäksi vielä katsoa koostuvan kahdesta tai kolmesta kerroksesta,  $S_1$ - $S_3$ , joista keskikerros  $S_2$  on paksuin ja muodostaa koko soluseinästä suurimman osan. Eri solujen primääriseinien välissä on välilamelli, jonka avulla solut kiinnittyvät toisiinsa. Soluseinien sisällä sijaitsee soluontelo, jota solutyypistä riippuen voi ympäröidä kyhmykerrokseksi kutsuttu pinta.



Kuva 4. Hahmotelma yksittäisen solun soluseinän rakenteesta. Solujen välissä oleva välilamelli VL kiinnittää solujen soluseinät toisiinsa. Soluseinän uloimpana kerroksena primääriseinä P ja sekundääriseinän kerrokset  $S_1$ ,  $S_2$  ja  $S_3$ . Sisimpänä sijaitsee soluontelo SO. Kirjan [24] pohjalta tehdyt kuvitukset.

Paksuseinäisten parenkymisolujen ja prosenkymisolujen soluseinämät ovat kaksikerroksisia, kun ohutseinäisiä parenkymisoluja ympäröi vain primaarisoluseinä. Soluseinä koostuu selluloosasta,

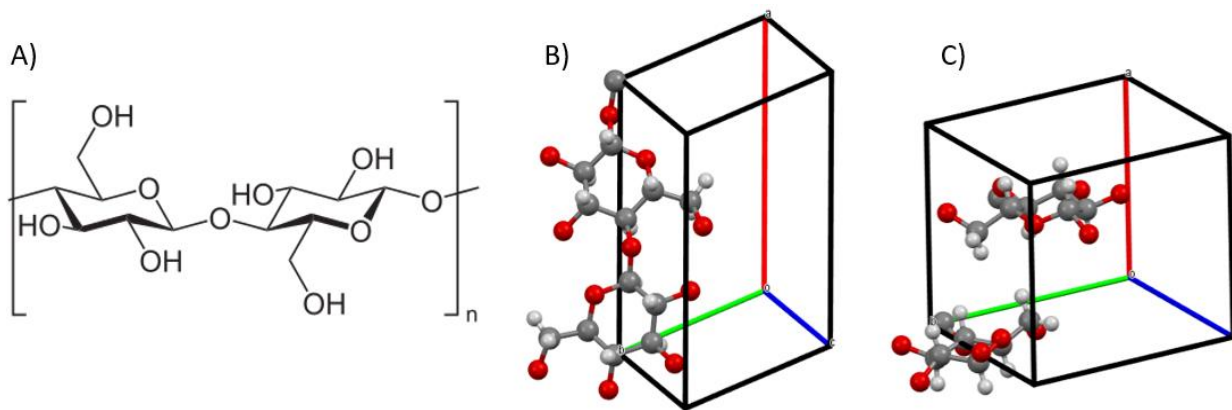
hemiselluloosasta, ligniinistä ja erilaisista proteiineista, joiden suhteelliset osuudet vaihtelevat soluseinien kerroksien mukaan. Esimerkiksi primaariseinä koostuu enimmäkseen hemiselluloosasta ja sekundaariseinä pääsääntöisesti selluloosasta [22].

Soluseinissä selluloosa ja hemiselluloosa muodostavat matriisirakenteen, jossa selluloosasta koostuvat mikrofibrillit ovat asettuneina hemiselluloosapohjaan keskimäärin tietyissä suunnissa. Selluloosamikrofibrillien orientaatio vaihtelee soluseinän kerrosten mukana ja primaariseinäessä ne ovat täysin satunnaisesti asettuneina [1]. Välilamelli on pääasiallisesti pektiiniainetta ja ligniiniä. Ligniiniä on lisäksi joissakin soluissa, kuten esimerkiksi trakeideissa ja putkiloissa, joissa se saa aikaan puuaineksen puutumisen. Soluseinien rakenteessa on myös pieniä huokosia, joiden kautta solujenvälinen vesikierto tapahtuu.

Suurimman osan puuaineksesta koostuu selluloosasta, joka puulajista riippuen muodostaa noin 40-45 % puun kuivamassasta. Muita komponentteja ovat hemiselluloosat, ligniini ja uuteaineet. Puun kuivamassasta keskimääräisesti hemiselluloosia on noin 15-30%, ligniiniä 20-30% ja uuteaineita alle 5% [1]. Suurin osa puuaineksen sisältämästä selluloosasta, hemiselluloosasta ja ligniinistä on sitoutuneena solujen soluseinien rakenteisiin.

#### 2.5.1 Selluloosa

Selluloosa,  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , on D-glyukoosimolekyyleistä koostuva, homogeeninen polysakkaridi, jossa molekyylisyksiköt liittyvät toisiinsa  $\beta(1\rightarrow4)$  glykolisidoksella ja muodostavat lineaarisen polymeeriketjun (kuva 5A). Luonnossa esiintyvän selluloosan polymeeriketjussa on keskimäärin  $10^4$  glukoosiyksikköä ja sen pituus on usein vähintään 5  $\mu m$  [24]. Selluloosan polymeeriketjussa olevat glukoosimolekyylit voivat muodostavat vetysidoksen toisiin selluloosamolekyyleihin hydroksyyliyhmiensä (-OH) kautta, jolloin ne muodostavat noin 3-4 nm leveitä kimppuja [26] [27], *mikrofibrillejä*. Selluloosamikrofibrillit muodostavat keskenään vielä suurempia rakenteita, *makrofibrillejä*, jotka ovat halkaisijaltaan kokoluokkaa 10-25 nm [28]. Kasvien soluseinien mikrofibrillien on ehdotettu koostuvan poikkileikkaukseltaan 36-ketjuisesta selluloosasta [29] tai vaihtoehtoisesti 24- ketjuisesta selluloosasta [30] ja jopa pienempiketjuisesta mallista [31]. Selluloosamikrofibrillien rakenteessa amorfiset ja kiteiset alueet vuorottelevat, joka tekee fibrilleistä osittain kiteisiä [1]. Kiteisiä alueita kutsutaan kristalliiteiksi tai kiteiksi ja niiden massaosuuden perusteella voidaan arvioida selluloosamassan keskimääräistä kiteisyyttä.



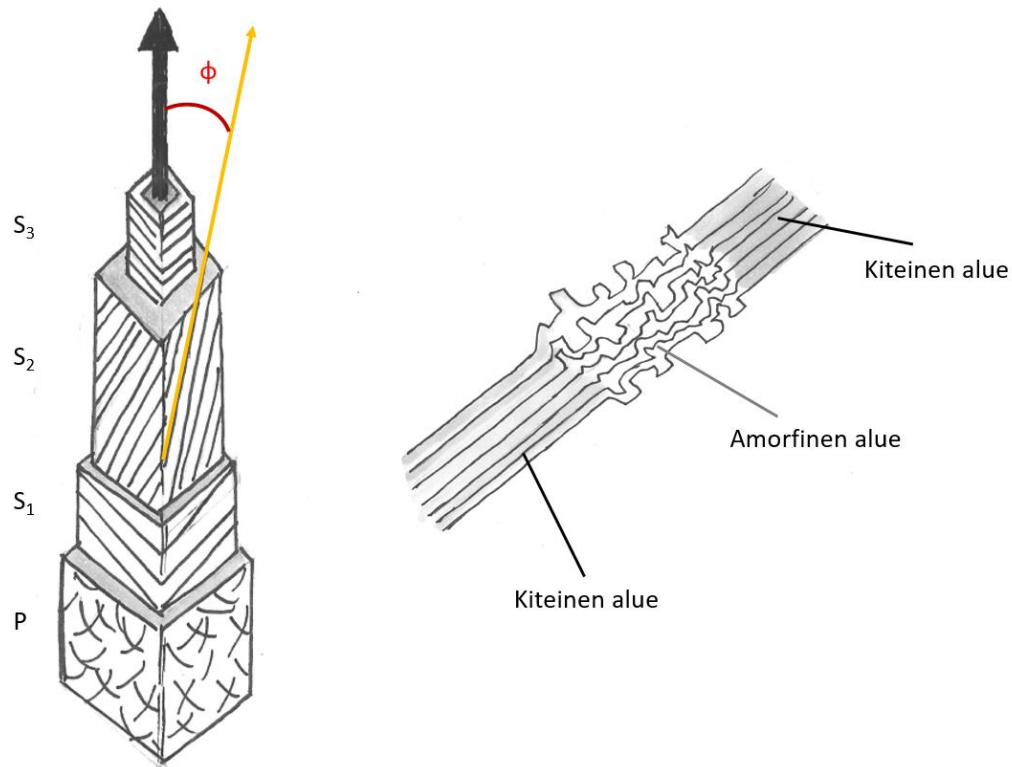
Kuva 5. A) Selluloosaketjun muodostava yksittäinen D-glukoosiyksikkö [32], B)  $I_{\alpha}$ -Selluloosan yksikkökoppi ja C)  $I_{\beta}$  -selluloosan yksikkökoppi piirretty Mercury- ohjelmistolla artikkelien [33] ja [34] mallien mukaisesti.

Usein kiteisestä selluloosasta puhuttaessa tarkoitetaan natiivia selluloosan tyyppiä I, joka voidaan edelleen jakaa  $I_{\alpha}$ - ja  $I_{\beta}$  -tyyppeihin. Selluloosan  $I_{\alpha}$ - ja  $I_{\beta}$  -tyyppien ero selittyy pienillä poikkeamilla yksittäisten selluloosaketjujen kiderakenteiden välillä:  $I_{\alpha}$ - selluloosa kidemuodoltaan on trikliininen ja  $I_{\beta}$  -selluloosa monokliininen. Trikliinisen selluloosan yksikkökoppi sisältää osan yhdestä selluloosaketjusta (kuva 5B) ja monokliinisen selluloosan yksikkökoppi vastaavasti kahdesta ketjusta (kuva 5C) [35] [34] [33]. Selluloosan I-tyyppiä jatkokäsittelmällä voidaan tuottaa selluloosan II, III ja IV muotoja. Esimerkiksi selluloosan II- tyyppiä voidaan tuottaa selluloosa I:n alkalikäsittelyllä. Natiivin selluloosan lisäksi myös synteettisissä selluloosatyypeissä on kiteisiä alueita, mutta ne eivät vastaa natiivin selluloosakiteiden mekaanisia ominaisuuksia [36]. Puiden ja muiden kasvien soluseinämien rakenteen selluloosa on pääsääntöisesti tyyppiä  $I_{\beta}$ , ja  $I_{\alpha}$  -selluloosaa esiintyy bakteerien tuottamana [33].

#### 2.5.1.1 Selluloosa mikrofibrillit ja mikrofibrillikulma (MFA)

Soluseinän selluloosamikrofibrillit ovat muodoltaan spiraalimaisesti (helix) kiertyneitä oman akselinsa ympäri, soluseinän ympärille kietoutuen (kuva 6). Mikrofibrillien kiertyminen oman akselinsa ympäri voi olla oikea- (*S-helix*) tai vasenkätistä (*Z-helix*). Mikrofibrillien tärkein ominaisuus on mikrofibrillikulma, *Microfibril Angle (MFA)*, joka tarkoittaa sekundaarisen soluseinän yksittäisten selluloosamikrofibrillien ja solun pituussuuntaisen akselin välistä kulmaa. Solutyypistä riippuen, mikrofibrillien järjestäytyneisyys ja MFA on erilainen soluseinän eri kerrosten välillä. Esimerkiksi havupuiden trakeidien soluseinän keskimääräiset

mikrofibrillikulmat ovat suurehkoja  $S_1$  ja  $S_3$  kerroksissa ( $45 - 90^\circ$ ) ja  $S_2$  kerroksessa verrattain pieniä ( $10 - 30^\circ$ ) riippuen siitä ovatko mikrofibrillit S- vai Z- suuntaan kiertyneitä [1] [37].



Kuva 6. Kuvassa vasemmalla hahmotelma mikrofibrillien suunnasta soluseinän eri kerroksissa P- $S_3$ . Mustalla nuolella ilmaistaan solun pituussuuntaisen akselin suuntaa ja kulmalla  $\phi$  mikrofibrillikulmaa MFA. Kuvassa oikealla luonnosteltu mikrofibrillien osittain kiteistä rakennetta. Artikkelin [38] pohjalta tehty hahmotelma mikrofibrillikulmasta ja osittain kiteisestä mikrofibrillistä [39].

Mikrofibrillejä tutkittaessa röntgensironnalla, usein tutkitaan pääasiassa sekundaariseinän  $S_2$ -kerroksen fibrilleitä, sillä soluseinän paksuimpana kerroksena, sen mikrofibrillit pääasiassa vastaavat syntyneestä diffraktiokuvista. Mikrofibrillikulman arvon on todettu vaihtelevan sydänpuun ja pintapuun välillä ja lisäksi vuosirenkaan funktiona [40]. Aiemmissa tutkimuksissa on esimerkiksi kyetty osoittamaan kuusen trakeidien mikrofibrillikulman keskimäärin kasvavan pintapuusta sydänpuuhun edettäessä [40] [41] ja vaihtelevan kevät- ja kesäpuun välillä [42]. Lisäksi mikrofibrillikulma muuttuu reaktiopuussa suhteessa normaaliin puunäytteeseen [43]. Selluloosamikrofibrillien orientaatio ja mikrofibrillikulma vaikuttavat puuaineksen jäykkyyteen [44], ja pienemmän mikrofibrillikulman on osoitettu olevan yhteydessä parempiin mekaanisiin ominaisuuksiin [45] [46].



### 2.5.2 Hemiselluloosa

Hemiselluloosat ovat polysakkarideja, joiden polymeeriketjun osana on useita erilaisia sokereihin luettavia sivuryhmiä. Toisin kuin selluloosa, hemiselluloosa on amorfinen ja lyhyempiketjuinen polymeeri, joka haarautuu hyvin voimakkaasti. Hemiselluloosat jaetaan pääryhmiin niiden sisältämien sokerien perusteella. Näitä pääryhmiä ovat muun ksylaanit, glukuroksylaanit, arabinoksylaanit, mannaanit ja glukaanit. Puiden solujen soluseinien sisältämä hemiselluloosatyyppi vaihtelee havu- ja lehtipuissa sekä eri osissa puun rakennetta. Havupuiden ksyleemin sisältämät hemiselluloosat kuuluvat pääsääntöisesti mannaaneihin, joista suurin osa on galaktoglukomannaania, joka kokonaisuudessaan muodostaa 10-15% havupuiden hemiselluloosasta [47]. Havupuissa on usein lisäksi arabinoglukuroniksylaania noin 5-10 %. Lehtipuiden hemiselluloosat kuuluvat useimmiten ksylaaneihin, joiden ohessa on pieninä määrinä usein glykomannaania (alle 5 %) [47]. Selluloosan ohella hemiselluloosa on solujen soluseinämien tärkeä rakennusaine, jossa se osallistuu tukirakenteen muodostamiseen.

### 2.5.3 Ligniini

Selluloosan jälkeen yleisin biopolymeeri on ligniini, joka on rakenteeltaan erittäin monimutkainen, heterogeeninen polymeeri, jonka perusyksikkönä toimii fenyylipropaani. Ligniini on hydrofobinen polymeeri ja sen polymeeriketjun osana voi olla monia funktionaalisia ryhmiä, kuten esimerkiksi keto- tai metoksyyliryhmiä. Ligniinillä ei ole säännöllistä kiderakennetta vaan se on polymeeriketjunsä voimakkaan haaroittuneisuutensa takia amorfinen.

Ligniinin varsinainen koostumus vaihtelee eri puulajien välillä, havupuiden ksyleemissä ligniinipitoisuus on noin 25-30% ja lehtipuiden noin 20-25% [25].

Ligniiniä on kasvien solujen soluseinämissä, jossa se on kovalenttisesti sitoutunut hemiselluloosaan ja toimii näin yhdistävänä tekijänä eri polysakkaridien välillä. Ligniinin ja hemiselluloosan kovalenttinen sidos lisäksi vahvistaa solukon mekaanisia ominaisuuksia. Ligniinin tärkein tehtävä on kuitenkin huolehtia soluseinän kosteuspitoisuudesta, joka selittyy sen hydrofobisen ominaisuutensa kautta. Soluseinäissä oleva ligniini vähentää soluseinän vedenläpäisyvyyttä, jolloin turhaa kosteutta ei pääse soluseinän lävitse ja puun johtosolukon toiminta tehostuu [48].

### 2.5.4 Muut aineet

Pienimmän osan puun kuivamassasta (alle 5 %) vievät uuteaineet, joihin lukeutuu laaja kirjo erilaisia epäorgaanisia ja orgaanisia yhdisteitä. Uuteaineita ovat kaikki ne yhdisteet, jotka eivät osallistu soluseinien muodostamiseen, ja jotka liukenevat veteen tai orgaanisiin liuottimiin. Uuteaineet jaotellaan usein neljään eri pääryhmään funktionaalisten ryhmiensä perusteella. Ensimmäiseen pääryhmän muodostavat hiilivetyihin kuuluvat terpeenit, terpenoidit ja steredoidit, joiden molekyyliarakenteen rungon perusyksikkö on isopreeni ( $C_6H_8$ ). Toisen ryhmän muodostavat rasvat ja vahat, joihin kuuluvat triglyseidit ja muut rasvahappojen esterit sekä steryyliesterit ja sterolit. Viimeiset kaksi

uuteaineiden päätyppiä muodostavat fenoliset ja epäorgaaniset yhdisteet. Fenoliset yhdisteet ovat rakenteeltaan pääsääntöisesti aromaattisia hiilivetyjä, joista tärkeimmät kuuluvat stilbeeneihin, lignaaneihin, flavonoideihin ja tanniineihin. Orgaanisista uuteaineista sydänpuuhun varastoituneet terpenoidit, flavonoidit ja stillbeenit on yhdistetty puun hyvään hajottajien ja lahonkestävyyteen [49] erityisesti trooppisten lehtipuulajien joukossa [50]. Esimerkiksi erään veripihkapuihin (*Pterocarpus spp.*) kuuluvan puulajin sisältämien pterokarpaani (*pterocarpan*s) isoflavonoidiyhdisteiden on osoitettu ehkäisevän puuta ravinnokseen käyttävien hyönteisten aiheuttamia tuhoja [51].

Epäorgaanisten yhdisteiden ryhmän muodostavat metallien eri yhdisteet, kuten suolat, karbonaatit ja silikaatit. Yhdisteissä yleisimmin esiintyvät metallit ovat kalsium (Ca), kalium (K) ja magnesium (Mg). Myös mangaania (Mn) voi esiintyä puissa pieniä määriä. Osa epäorgaanisista yhdisteistä voi esiintyä myös kiteisessä muodossa, joista puun ksyleemissä yleisin lienee kalsiumoksaalaatti,  $\text{CaC}_2\text{O}_4(\text{H}_2\text{O})_x$  [52]. Kalsiumoksaalaattikiteet ovat tavallisia monissa muissakin kasveissa, jossa ne usein varastoituvat neulamaisina kiteinä (*Raphide*) kasvusta riippuen tiettyihin solukoihin [53]. Puissa kalsiumoksaalaattikiteet ovat kiderakenteeltaan pääsääntöisesti rombisia [52]. Muita puissa esiintyviä kiteisiä yhdisteitä ovat esimerkiksi kalsiumkarbonaatti ( $\text{CaCO}_3$ ), piioksidi ( $\text{SiO}_2$ ), kalium-kalsiumsulfaattiyhdisteet ( $\text{CaSO}_4(\text{H}_2\text{O})_2$  ja  $\text{CaK}_2\text{O}_8\text{S}_2$ ) sekä berberiini ( $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4^+$ ), joka on tunnuksenomainen erityisesti *Berberis* -suvun puille [54] [52]. Epäorgaanisten uuteaineiden määrään ja tyyppiin vaikuttavat voimakkaasti ympäristötekijät, kuten kasvupaikka ja ilmasto [1] [55]. Uuteaineet varastoituvat eri osiin puun solukossa, esimerkiksi rasva- ja vahayhdisteet esiintyvät yleisesti havu- ja lehtipuiden parenkyymsoluissa. Lisäksi havupuiden ksyleemin pihkatiehyihin kertyy pääsääntöisesti terpenoideja ja steroideja. Fenoliset yhdisteet esiintyvät pääsääntöisesti puun kaarnassa ja sydänpuussa ja epäorgaaniset yhdisteet havu- ja lehtipuiden solujen soluseinämissä ja -onteloissa [1]. Uuteaineiden määrä ja tyyppi vaihtelee eri puulajien sydän- ja pintapuun välillä, ja yleisesti trooppisten ja subtrooppisten puulajien ksyleemissä erityisesti epäorgaanisten uuteaineiden määrä on korkea [55]. Kansainvälistä tutkimusta uuteaineiden suhteellisista osuuksista trooppisissa puulajeissa on vain tehty vain vähän, ja usein uuteaineiden tutkimus on keskittynyt lähinnä tiettyihin orgaanisiin yhdisteisiin, joilla on potentiaalisia tuholaiskarkotemaisia tai lääkinnällisiä ominaisuuksia. Monia trooppisen ilmastovyöhykkeen puulajeja ja niiden eri rakenneosia käytetään lääkekasveina juuri niiden sisältämien uuteaineiden takia [56], ja esimerkiksi usealle *Dalbergia* -sukuun kuuluvista puista on tehty farmakologista tutkimusta [57].

### 3. Teoria

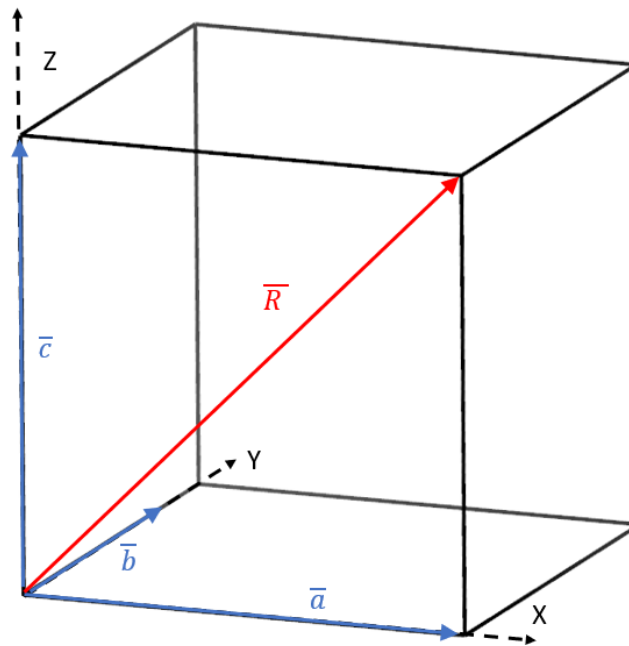
#### 3.1 Kiinteän aineen rakenne

##### 3.1.1 Kiderakenne

Kiinteät materiaalit esiintyvät kiteisinä, amorfisina tai muussa näiden välillä olevassa muodossa. Kiteisten aineiden atomit muodostavat säännönmukaisen aineelle tyypillisen pitkän kantaman järjestyksen, jota kutsutaan kiderakenteeksi. Kiderakenne koostuu yksittäisistä kiteistä, jotka puolestaan muodostuvat hilasta ja kannasta, jotka yhdessä määrittelevät atomien tai molekyylien paikan ja järjestyksen kiderakenteessa. Hilaa voidaan kuvata yksikkövektoreiden avulla, jotka virittävät yksikkökopin. Yksikkövektorit esitetään usein muodossa

$$\vec{R} = n_1\vec{a} + n_2\vec{b} + n_3\vec{c} \quad (1)$$

jossa  $n_1, n_2$  ja  $n_3$  ovat kokonaislukuja ja vektorit  $\vec{a}$ ,  $\vec{b}$  ja  $\vec{c}$  primitiivivektoreita.



Kuva 7. Yksinkertainen kuutiollinen yksikkökoppi ja sen virittävät yksikkövektorit.

Yksikkövektoreiden perusteella määräytyvät myös hilaparametrit: vektorien pituudet ja niiden väliset kulmat. Kaikki kolmiulotteiset säännölliset hilat kuuluvat johonkin seitsemästä kidejärjestelmästä, joissa on yhteensä neljätoista erilaista hilaa [58]. Nämä hilat tunnetaan *Bravais'n hiloina* niiden määrittäjän, fyysikko Auguste Bravais'n mukaan.



Kuutiollisten hilojen tapauksessa Millerin indeksit ovat sidoksissa vierekkäisten hilatasojen väliseen etäisyyteen  $d_{hkl}$  ja hilavakioon  $a$  yhtälön 2 mukaisesti [60].

$$d_{hkl} = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}} \quad (2)$$

### 3.1.4 Käänteishila

Käänteishila on reaalihilan (usein Bravais'n hilan) Fourierin muunnos, jolla on suuri merkitys säännöllisten hilarakenteiden tutkimuksessa, erityisesti röntgensironnan ja -diffraktion tapauksessa. Käänteishilan virittävät käänteishilavektorit  $\vec{G} = h\vec{a}^* + k\vec{b}^* + l\vec{c}^*$ , jotka ovat suoraan johdettavissa alkeisvektoreista (kaavat 3-5) [60].

$$\vec{a}^* = \frac{2\pi}{V_c} [\vec{b} \times \vec{c}] \quad (3)$$

$$\vec{b}^* = \frac{2\pi}{V_c} [\vec{c} \times \vec{a}] \quad (4)$$

$$\vec{c}^* = \frac{2\pi}{V_c} [\vec{a} \times \vec{b}] \quad (5)$$

$$V_c = \vec{a} \cdot (\vec{b} \times \vec{c}) \quad (6)$$

Käänteishilavektorien kertoimet vastaavat kidetasoja ( $hkl$ ), jonka vuoksi käänteishilan parametreja tutkimalla saadaan suoraan tietoa materiaalin kiderakenteesta.

## 3.2 Röntgensäteily ja materia

### 3.2.1 Röntgensäteily

Röntgensäteily on lyhytaaltoista ja korkeaenergistä sähkömagneettista säteilyä, jota käytetään laajalti tutkimuksessa, teollisuudessa ja lääketieteessä, erityisesti kuvantamisen yhteydessä. Röntgensäteily on aallonpituudeltaan ångströmmien ( $10^{-10}$  m) kokoluokkaa ja vastaa energialtaan aluetta 100 eV – 100 keV. Riippuen käytetystä röntgensäteilyn energiasta, puhutaan joko pehmeistä röntgensäteistä (soft x-rays), joilla tarkoitetaan niitä röntgensäteitä, joiden energia jää tyypillisesti alle 10 keV:n, tai vastaavasti kovista röntgensäteistä (hard x-rays), jos niiden energia ylittää 10 keV:n rajan. Alhaisen energiansa takia pehmeät röntgensäteet absorboituvat usein jo ilmaan ja niitä käyttäviin laitteisiin tarvitaan tyhjiö, jonka suuruus riippuu käytettävästä menetelmästä. Esimerkiksi röntgenfotoelektronispektroskopiassa (XPS) vaaditaan usein ultratyhjiö (noin  $10^{-7} - 10^{-10}$  Pa).

Röntgensäteilyn fotonien ja aineen atomien elektronien välillä tapahtuva mahdollinen vuorovaikutus on aina joko sirontaa tai absorptiota. Absorptiota ovat esimerkiksi valosähköinen ilmiö ja parinmuodostus. Sironta voi olla joko koherenttia (elastista) tai epäelastista, joissa ensimmäiseksi mainitussa röntgensäteilyn aallonpituus ei muutu prosessin aikana, kun taas epäelastisessa sironnassa se muuttuu. Epäelastinen sironta tunnetaan myös *Comptonin ilmiönä*.

Röntgenfotonien ja atomien elektronien välinen vuorovaikutus on statistinen prosessi eikä sitä välttämättä tapahdu. Tällöin röntgensäteily yksinkertaisesti läpäisee aineen. Vuorovaikutuksen laatu riippuu aina röntgensäteilyn fotonien energiasta ja kohdemateriaalin atomien elektronikuorirakenteesta. Pienenergisillä röntgensäteillä absorptio toimii dominovana vuorovaikutuksena ja korkeammilla energioilla sironta nousee vallitsevaksi vuorovaikutukseksi.

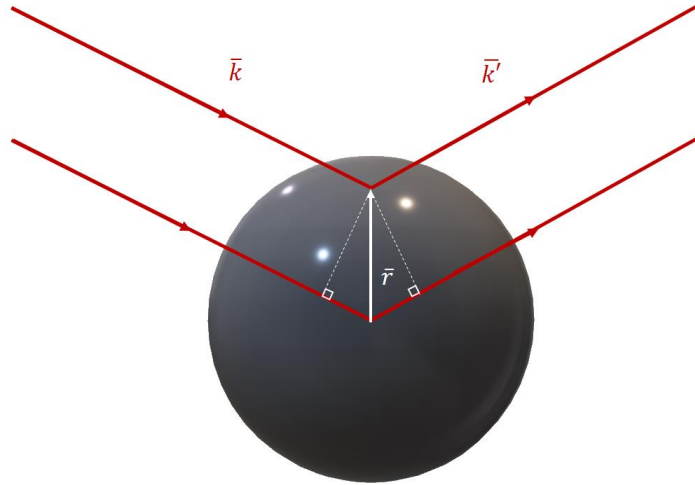
### 3.2.2 Elastinen sironta

Elastista sirontaa voi kuvata klassisella prosessilla, jossa röntgensäteen sähkökenttä ja elektroni vuorovaikuttavat sähkömagneettisesti. Elektroniin osuvan tasoaallon sähkökenttä pakottaa sen värähtelemään, jonka johdosta elektroni alkaa emittoida pallosymmetrisesti röntgensäteilyä [61]. Emittoituneen röntgensäteiden energian ollessa yhtä suurta kuin alkuperäisten röntgensäteiden, käsitellään tilannetta yleensä röntgensäteilyn elastisena siroamisena elektroneista.

Atomin tapauksessa röntgensäteily voi sirota monesta elektronista, joiden lukumäärätiheyttä kuvataan parametrilla  $\rho(\mathbf{r})$  ja paikkaa vektorilla  $\mathbf{r}$ . Sironneen röntgensäteilyn säteilykenttä on superpositio kaikkien lukumäärätiheyteen kuuluvien elektroneiden emittoimasta säteilystä. Kuvaamalla alkuperäistä ja sironnutta säteilyä tasoaaltona, jonka aaltovektorit ovat vastaavasti  $\mathbf{k}$  ja  $\mathbf{k}'$ , saadaan aaltojen vaihe-erona  $\Delta\phi$

$$\Delta\phi(\vec{r}) = (\vec{k} - \vec{k}') \cdot \vec{r} = \vec{Q} \cdot \vec{r} \quad (7)$$

jossa  $\vec{Q} = \vec{k} - \vec{k}'$ , joka tunnetaan *sirontavektorina*. Vektorilla  $\mathbf{Q}$  kuvataan elastista sirontaa ja sen yksikkönä käytetään usein  $\text{\AA}^{-1}$  [61].



Kuva 9. Säteilyn siroaminen atomista. Tulevan säteilyn aaltovektori  $\vec{k}$  ja sironneen säteilyn aaltovektori  $\vec{k}'$ . Elektronien paikkaa atomissa kuvataan vektorilla  $\vec{r}$ . Tilannetta hahmoteltu lähteen [61] pohjalta.

### 3.2.3 Braggin laki

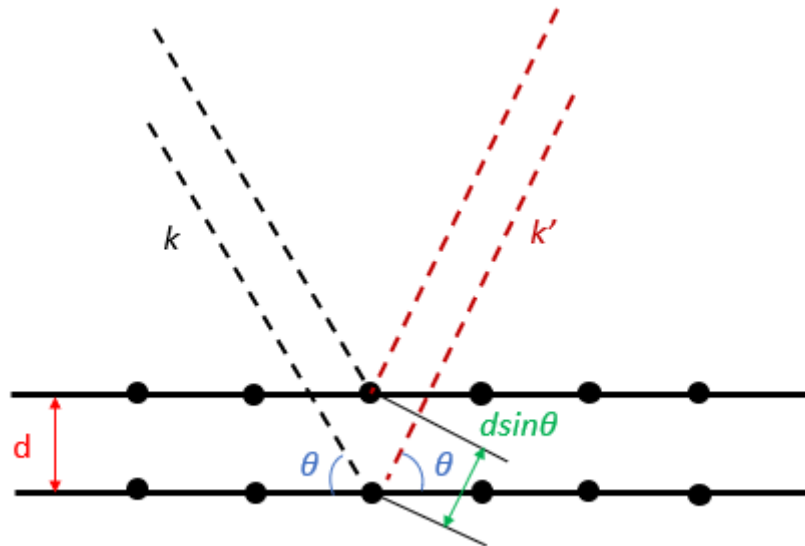
Sironnan erityistapausta, diffraktiota, kuvataan usein *Braggin lain* avulla, jossa atomien välimatkoja vastaavan aallonpituuden omaava sähkömagneettinen säteily siroaa kiteisestä aineesta muodostaen vahvistavaa interferenssiä. Röntgensäteily siroaa kiderakenteessa  $d$ :n välisillä etäisyyksillä olevista hilatasoista ( $hkl$ ) (kuva 10). Sironneiden röntgensäteiden vaiheesta riippuen ne interferoivat vahvistavasti, jos sironneet säteet ovat samassa vaiheessa tai vaimentavasti, mikäli säteiden vaiheet ovat vastakkaissuuntaiset. Vahvistavaa interferenssiä muodostuu vaihesiirron  $2\pi$  ja sen monikertojen arvoilla, joka voidaan ilmaista matemaattisesti seuraavasti

$$m\lambda = 2d \sin \theta, \quad (8)$$

missä  $m$  on kokonaisluku,  $\lambda$  säteilyn aallonpituus,  $d$  heijastustasojen välimatka ja  $\theta$  säteen tulokulma pinnan suhteen [61]. Röntgensäteilyn tapauksessa  $m = 1$ , sillä kaikilla  $m > 1$  arvoilla tapahtunut sironta voidaan käsittää  $m$ -kertaluokan heijastuksina kidetasoista ( $hkl$ ). On luontevaa käsitellä esimerkiksi toisen kertaluokan heijastusta, ( $m = 2$ ), kidetasosta (111) esittämällä se ensimmäisen kertaluokan heijastuksena kidetasosta (222). Tämä huomioiden, voidaan Braggin laki kirjoittaa seuraavasti,

$$\lambda = 2 \left( \frac{d}{m} \right) \sin \theta, \quad (9)$$

jolloin  $m$ -kertaluokan heijastus kidetasoista ( $hkl$ ) etäisyydellä  $d$  toisistaan on sama kuin ensimmäisen kertaluokan heijastus kidetasoista etäisyydellä  $\left( \frac{d}{m} \right)$  [62].



Kuva 10. Braggin laki. Saapuvat röntgensäteet siroavat etäisyydellä  $d$  toisistaan olevista hilatasoista. Kuvassa saapuvan röntgensäteilyn aaltovektori  $k$  ja sironneiden säteiden aaltovektori  $k'$ .

Diffraktiokuvio muodostuu, kun sironneet ja interferoivat röntgensäteet osuvat ilmaisimelle niiden intensiteetin mittaamiseksi. Suuri-intensiteettiset, diffraktiokuvion interferenssimaksimit muodostuvat Braggin lain ehtojen mukaisesti sironneista röntgensäteistä. Nämä tunnetaan *Braggin piikkeinä* ja niitä käytetään hyödyksi määrittäessä materiaalin kiderakennetta ja siihen liittyviä parametreja eri sirontateknisillä menetelmillä.

### 3.2.4 Absorptio

Absorptiossa aineeseen tunkeutuneiden röntgensäteiden energia pienenee röntgenfotonien ja aineen atomien vuorovaikutuksessa. Röntgensäteiden absorptio aineessa on eksponentiaalista ja sitä voidaan kuvata matemaattisesti seuraavasti

$$I(z) = I_0 e^{-\mu z}, \quad (10)$$

jossa  $I_0$  on röntgensäteilyn alkuperäinen intensiteetti,  $I$  röntgensäteilyn intensiteetti aineessa syvyydellä  $z$  ja  $\mu$  lineaarinen absorptiokerroin. Oheinen yhtälö tunnetaan yleisesti Beerin ja Lambertin lakina [61].

Lineaarinen absorptiokerroin kuvaa materiaaliin absorboituneiden röntgensäteiden osuutta yksikköpaksuutta kohti. Usein lineaaristen absorptiokertoimien sijasta absorptiota käsitellään *massa-absorptiokertoimen*  $\mu_m = \frac{\mu}{\rho_m}$  avulla, jossa on otettu huomioon materiaalin massatiheys  $\rho_m$ .

### 3.2.5 Röntgenlaajakulmasironta

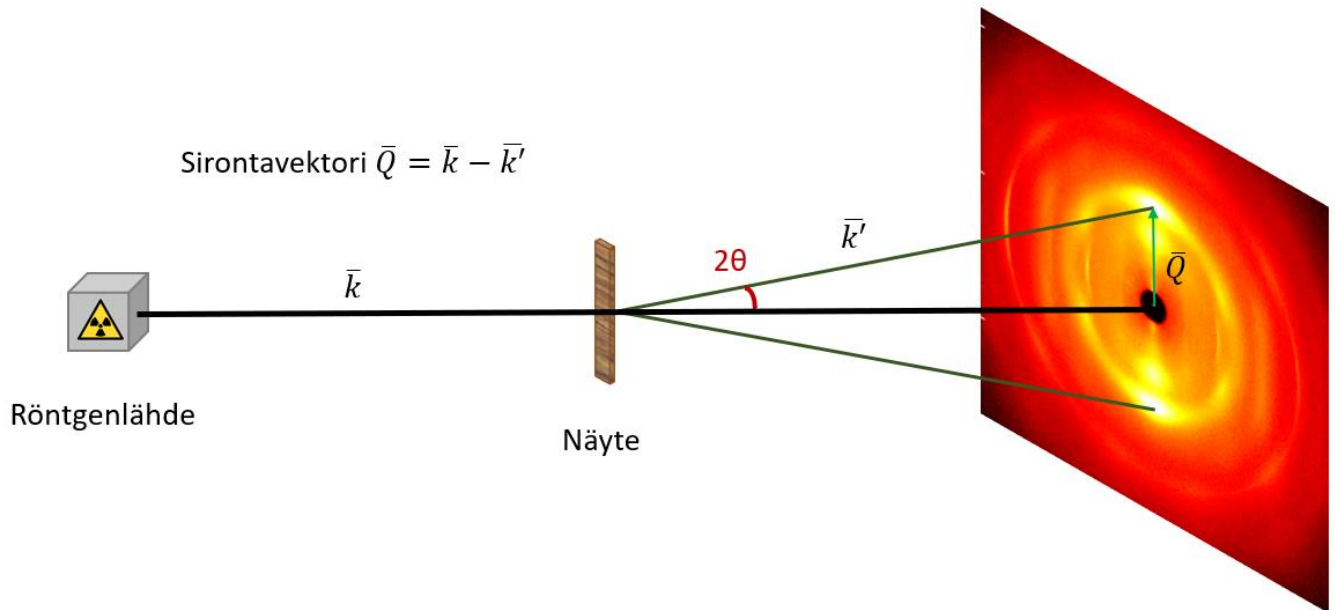
Laajakulmasironta, WAXS (wide-angle x-ray scattering), on röntgensirontamenetelmä, jota käytetään erilaisten nanokokoluokan ( $d = 0.33 - 0.49$  nm [63]) polymeerirakenteiden kiderakenteen tutkimiseen. Laajakulmasironnalla on mahdollista saada tietoa tutkittavan materiaalin kiteisyydestä, kidekoosta ja



kiteiden

orientaatiosta.

Röntgenlaajakulmasironnalla tarkoitetaan kiteisen näytteen tuottamia Braggin piikkejä isoilla sirontakulmilla ( $2\theta > 5^\circ$ ) riippuen käytetyn röntgensäteilyn energiasta, joilla ilmaisimelle muodostuu diffraktiokuviona *Debye-Scherrer renkaita*, jos kiteiden orientaatio on satunnaista. Selluloosakiteiden orientaation ollessa pääsääntöisesti lähes yhdensuuntaisia puun ksyleemin solujen pituussuuntaisen akselin kanssa, diffraktiokuviona nähdään kirkkaita läikkiä Debye-Scherrer renkaiden sijasta (Kuva 11).



Kuva 11. Sirontavektorin  $\vec{Q}$  muodostuminen käytännössä.

Jokainen ilmaisimelle muodostunut rengas vastaa näytteen kiderakenteen tiettyä käänteishilan vektorin  $\vec{G}$  ja sirontavektorin  $\vec{Q}$  pituutta, jolloin

$$|\vec{G}| = Q = \frac{4\pi \sin \theta}{\lambda}, \quad (11)$$

jossa  $\lambda$  on käytetyn säteilyn aallonpituus ja  $\theta$  puolikas sirontakulman  $2\theta$  arvosta [64].

Diffraktiokuvion sisältämää informaatiota on joskus helpompaa käsitellä kuvaajina, joissa renkaiden keskimääräinen intensiteetti on ilmoitettu sironneen säteilyn kulman funktiona, esimerkkinä liitteistön Gabonin eebenpuusta saatu sirontadata kuva (kuva 18). Teoriassa ideaalinen, ääretön kide tuottaa täydellisiä diffraktiopiikkejä, joiden kuvaajat muistuttavat muodoltaan deltafunktia. Todellisuudessa diffraktiokuvien piikit eivät noudata teorian ennustamaa ideaalista muotoa, vaan ne ovat leventyneitä. Tähän vaikuttavat mittaustekniset asiat, kuten laitteistovaikutus (esimerkiksi röntgenlähteen koko ja ilmaisimen ominaisuudet), ja lisäksi mitattavien kiteiden epätäydellisyys. Nanokokoluokan ( $< 100$  nm) kiteitä

mitattaessa, suurin vaikuttava tekijä diffraktiopiikkien levenemiseen on kuitenkin kiteen koko. Tätä suuremmilla kidekoilla laitteistovaikutus diffraktiopiikkien levenemiseen kasvaa mittalaitteistosta riippuen. Esimerkiksi synkrotronisäteilyn avulla tuotetuissa diffraktiopiikeissä laitteistovaikutus voi olla hyvinkin pientä, jolloin on mahdollista mitata jopa satojen nanometrien kokoisia kiteitä. Ottamalla huomioon mittalaitteiston vaikutuksen diffraktiokuvioon, kiteen koko voidaan määrittää diffraktiopiikkien puoliarvonleveyden, *full width at half maximum (FWHM)*, avulla.

#### 3.2.5.1 Kidekoko

Sirontakuvion synnyttäneiden selluloosakiteiden keskimääräinen leveys  $L$  on määritettävissä Scherrerin kaavan (12) avulla:

$$L = \frac{K\lambda}{B(2\theta) \cos \theta}, \quad (12)$$

jossa  $K$  on kiteen muototekijä,  $\lambda$  röntgensäteiden aallonpituus ja  $B(2\theta)$  on tutkittavan Braggin piikin  $\theta$  puoliarvonleveys [65]. Kaavassa on huomioitu kiteiden koon vaikutus puoliarvonleveyteen, mutta laitteiston vaikutus tulee huomioida erikseen. Olettamalla, että myös laitteiston vaikutus on luonteeltaan Gaussista, voidaan puoliarvonleveys-termi  $B(2\theta)$  kirjoittaa muotoon

$$B(2\theta) = \sqrt{B_{mitattu}^2 - B_{laitteisto}^2}, \quad (13)$$

jossa  $B_{mitattu}$  on tutkittavan heijastuksen puoliarvonleveys ja  $B_{laitteiston}$  laitteiston aiheuttama puoliarvonleveys.

Muototekijä  $K$  riippuu tutkittavan kiteen muodosta, esimerkiksi kuutiollisen symmetrian omaaville kiteille  $K = 0.94$  ja pallomaisille kiteille  $K = 0.89$  [66]. Selluloosalle määritetty muototekijä tason 200-heijastukselle on  $K = 0.9$  [67].

#### 3.2.5.2 Kiteisen selluloosan osuus

Puun kiteisyyttä eli kiteisen selluloosan osuutta kaikesta näytteen aineesta, on mahdollista arvioida röntgensironnan avulla. Amorfisen taustan vähennyksessä (*Amorphous fitting method*) huomioidaan taustan tuottama intensiteetti ja verrataan sitä näytteen tuottamaan intensiteettiin, jolloin voidaan näytteen kiteisyydelle ( $CI$ ) saada arvio kaavan 17 avulla [68].

$$CI = 1 - \frac{\int I_{amorfinen}}{\int I_{näyte}}, \quad (14)$$

jossa  $I_{näyte}$  vastaa näytteestä sironneen röntgensäteilyn intensiteettiä kulmilla  $2\theta$  ja  $I_{amorfinen}$  taustan intensiteettiä. Näytteen intensiteettiä  $I_{näyte}$  laskettaessa on huomioitu ilman ja muun taustan aiheuttama sironta mitatusta intensiteetin arvosta eli pelkän näytteen aiheuttama sironnan intensiteetti on siis  $I_{näyte} = I_{mitattu} - I_{ilma}$ .

### 3.2.5.3 Mikrofibrillikulma

Röntgendiffraktion tapauksessa mikrofibrillikulman suuruus arvioidaan mitatusta intensiteetistä, jota varten on kehitetty erilaisia menetelmiä. Tässä opinnäytetyössä mikrofibrillikulmaa eri puunäytteissä tutkittiin Caven luoman *T-parametrimenetelmän* avulla [69], jolla keskimääräisen mikrofibrillikulman suuruutta puusolukossa voidaan tutkia 200 -heijastuksen atsimuuttikulman intensiteettiprofiilin avulla. T-parametrin ja atsimuuttikulman yhteyden tutkimiseksi, Cave on artikkelissaan olettanut mikrofibrillikulmajakauman muodon noudattavan Gaussista jakaumaa. Lisäksi artikkelissa on oletettu mittausgeometrian noudattavan kohtisuoraa läpäisygeometriaa ja todettu, että näytteen linjausvirheet röntgensäteiden tasossa muuttavat intensiteettikäyrien muotoa, josta johtuva virhe on pienintä suurilla mikrofibrillikulman arvoilla. Näillä oletuksilla mikrofibrillikulmajakauman ja T-parametrin välille voidaan johtaa seuraava yhteys

$$T = M + 2\sigma \quad (15)$$

, jossa  $M$  on keskimääräisen mikrofibrillikulman arvo ja  $\sigma$  mikrofibrillikulman keskihajonta. Yhtälöä (15) muodostettaessa keskihajonnan  $\sigma$  ja keskimääräisen mikrofibrillikulman  $M$  suhde  $\sigma/M$  on oletettu olevan vakio ja suuruudeltaan  $1/3$ . Tällöin yhtälö (15) supistuu muotoon

$$M = 0.6T \quad (16)$$

Yllä oleva tulos on johdettu neliönmuotoisille soluille, mutta pätee myös pyöreille soluille normaalijakautuneesta mikrofibrillikulmajakaumasta johtuen [69]. Geometrialtaan pyöreät ja neliönmuotoiset solut edustavat ääritapauksia, ja luonnossa usein puusolujen keskimääräinen muoto on jotakin näiden kahden väliltä, vaihdellen voimakkaasti solutyypistä riippuen. T-parametrimenetelmää on tutkittu kokeellisten mittausten lisäksi simulaatioiden avulla, ja esimerkiksi menetelmässä oletetun mikrofibrillikulman ja keskihajonnan suhteen  $\sigma/M$  arvon olevan aliarvioitu, jonka takia menetelmän avulla generoidut mikrofibrillikulmien arvot ovat liian suuria. Eräessä julkaisussa ehdotetaan suhteen  $\sigma/M$  arvon olevan tosiasiaassa suurempi kuin  $1/3$ , vaihdellen keskimäärin välillä  $0.3 - 1.7$  [70].

Kokeellisesti T-parametrimenetelmän käytöstä mikrofibrillikulman määrittämiseksi puussa ja puun kaltaisissa materiaaleissa löytyy paljon julkaisuja [71] [72], ja menetelmä on edelleen suosittu sen iästä huolimatta. T-parametrin avulla on esimerkiksi selvitetty mikrofibrillikulmaa eri bambulajikkeissa [73] ja suomalaisessa tammessa [74].

## 4. Näytteet ja mittaukset

Työssä tutkittiin kahdeksantoista eri havu- ja lehtipuulajien kiteisyyttä ja soluseinän mikrofibrillikulmaa laajakulmasironnan avulla. Lisäksi sirontadatasta arvioitiin tietyille kulmille osuvien heijastusten intensiteettien voimakkuuksien avulla, mitä mahdollisia epäorgaanisia, kiteisiä uuteaineita tutkitut trooppiset puulajit sisältävät.

### 4.1 Näytteet

#### 4.1.1 Puulajit

Tutkimukseen oli valittu 18 eri puulajia, painottaen trooppisten ja subtrooppisten alueiden lehtipuulajeja. Tutkittavat puut ovat yleisesti käytössä erityisesti soittimien rakennusmateriaaleina niiden saatavuuden, kestävyys ja akustisten ominaisuuksien ansiosta, mutta niistä valmistetaan myös koriste-esineitä ja etupäässä huonekaluja. Useat näistä puulajeista ovat kansainvälisen luonnonsuojeluliiton ylläpitämän punaisen listan mukaan vaarantuneita (Vulnerable), esimerkkeinä kyseisistä lajeista amerikanaitomahonki (*Swietenia macrophylla*) ja brasilianpalisanteri (*Dalbergia nigra*). Mitatut havu- ja lehtipuulajit tiheysineen on esitelty liitteistöstä löytyvässä luettelossa (Taulukko 1). Tieteellisten, suomenkielisen ja englanninkielisen nimen lisäksi [75], taulukossa on ilmoitettu jokaisen puulajin tiheys ( $\text{kg/m}^3$ ) ja elastinen kerroin (GPa) lähteiden [76] [77] pohjalta. Yhteensä näytteitä valmistettiin ja mitattiin noin 60 kappaletta.

Osalle tässä opinnäytetyössä tutkittavista trooppisista puulajeista mikrofibrillikulmaa ja kiteisyyttä on kansainvälisellä tasolla tutkittu vain hyvin vähän, jonka takia kyseiset puulajeja ovat melko edustettuina tässä työssä. Lisäksi trooppisten puulajien valintaan vaikutti niiden suuri riski joutua uhanalaisiksi ja vaara kuolla sukupuuttoon, joka ohjaa löytämään ominaisuuksiltaan sopivia, elinvoimaisia puulajeja käytettäväksi korvikkeina näiden puulajien tilalla. Jotta voitaisiin selvittää, mitkä puulajit olisivat ominaisuuksiltaan lähellä esimerkiksi palisantereita, täytyy korvattavia puulajeja tutkia mahdollisimman monipuolisesti ja esimerkiksi juuri röntgensironnan menetelmin. Vaarantuneille ja uhanalaisille trooppisille puulajeille mahdollisten korvaajien löytäminen onkin yksi tutkimuksen mahdollisista jatkokysymyksistä.

#### 4.1.2 Näytteiden valmistus

Mittauksissa käytettävät puut hankittiin monelta eri puutavarantoimittajalta, Suomesta ja ulkomailta. Trooppiset ja osa muista lehtipuista hankittiin yrityksiltä Maderas Barber S.L. (Espanja), Exotic Hardwoods UK Ltd. (Britannia), Timberline (Britannia) ja Mad Inter (Espanja), jotka kaikki ilmoittivat puutavaran olevan peräisin pääsääntöisesti Aasiasta ja Afrikasta, ja noudattavan puutavaran toimituksessa ja jälleenmyynnissä CITES-sopimusta. Näytteen hankittiin alunperin Tonewood -projektia varten, jossa tutkitaan sähkökitaroissa käytettäviä puulajeja eri röntgentomografia ja -sironnan menetelmin [78]. Lisäksi suomalaiset kitaranrakentajat Kauko Liikanen ja Kari Nieminen lahjoittivat kitaroissa tyypillisesti

käytettävien puulajien ylijäämäpaloja. Suomalaiset havu- ja lehtipuut hankittiin yrityksiltä OP-puu Oy ja Virkkalan Jalopuu. Puukappaleet toimitettiin pituussuunnassa leikattuina lankkuina tai rungon poikkileikkauspaloina.

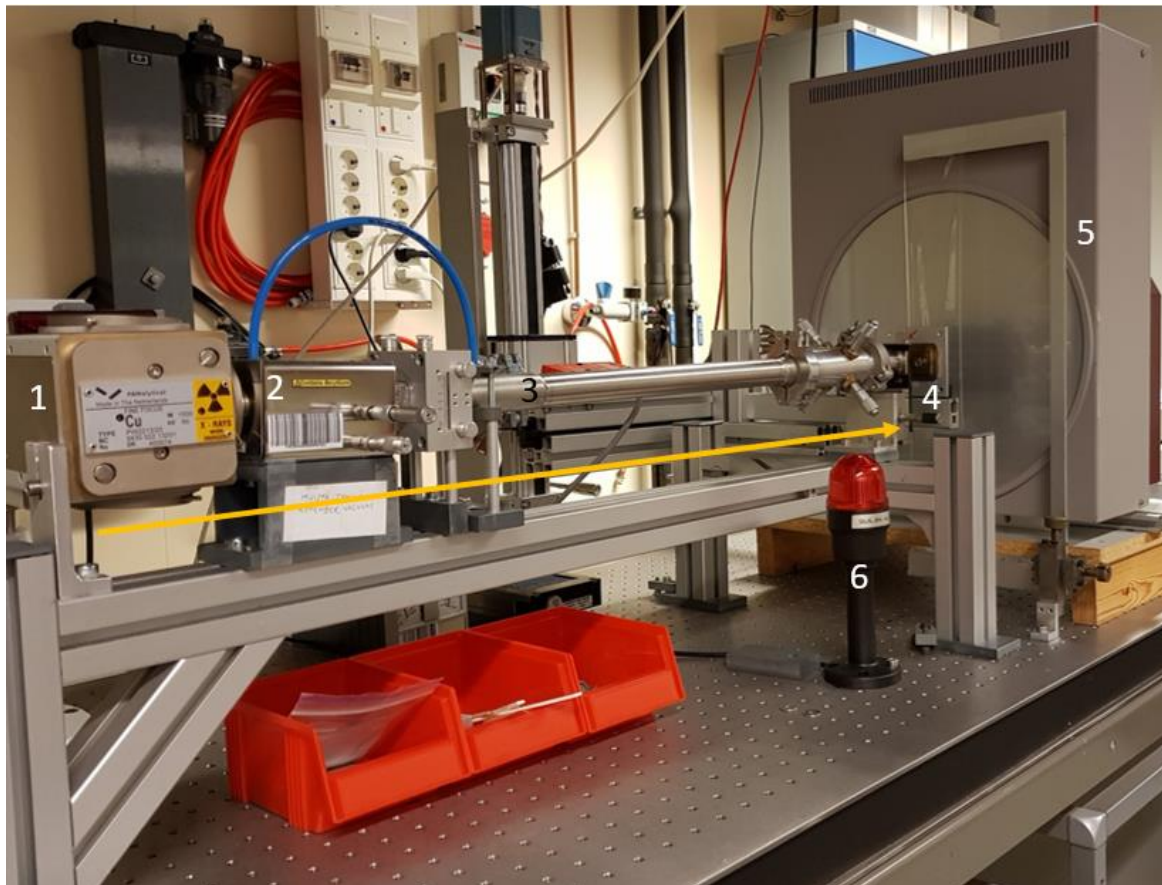
Puutavaran ollessa kaupallista, sen toimittajilla ei ollut saatavilla tietoa puun iästä tai miltä vuosilustoalueelta puun rungosta puukappale oli peräisin. Joillakin lajeilla, kuten *Diospyros*- ja *Dalbergia*-sukuihin kuuluvilla puilla, sydänpuu on pintapuuta merkittävästi tummempaa, jolloin se on tunnistettavissa silmämääräisesti sydänpuuksi. Tästä syystä tässäkin tutkimuksessa käytetyt *Disopyros*- ja *Dalbergia* suvun puunäytteet olivat kaikki värinsä vuoksi todennäköisesti sydänpuuta.

Alkuperäisestä ja isohkoista puukappaleista leikattiin kahdenmuotoisia näytteitä. Ensimmäiset mitattavat näytteet olivat kooltaan 2 cm x 2mm x 2mm, tulitikkumaisia paloja. Toiset näytteet leikattiin hieman leveimmiksi, 2cm x 5mm x 2mm kokoisiksi suorakulmioiksi. Ensimmäinen näytesarja leikattiin pienempään kokoon, jotta ne soveltuisivat ihanteellisesti röntgentomografiamittauksiin tulevaisissa mittauksissa. Näytteet pussitettiin erilleen ja säilöttiin näytekaapissa huoneenlämpötilassa ( $T = 21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) ja optimaalisessa ilmankosteudessa 45 %, jonka lähes päivittäisessä tarkkailussa huomattiin vaihdellen noin 5-10 %.

## 4.2 Mittalaitteisto

### 4.2.1 Laajakulmasironta

Röntgensirontamittaukset suoritettiin Helsingin yliopiston Röntgenlaboratorion laajakulmasirontalaitteistolla. Sirontalaitteisto ja sen komponentit on esitelty yksityiskohtaisesti kuvassa 12.



Kuva 12. Valokuva käytetystä röntgenmittalaitteistosta komponentteineen. 1. Kuparianodinen röntgenputki, 2. Monokromaattori, 3. Tyhjiöputki, 4. Näyteteline, 5. Kaksiuloitteinen kuvalevyilmaisin ja 6) Varoitusvalo. Jännitegeneraattoria ei ole esitetty kuvassa. Keltaisella nuolella hahmoteltu röntgensäteiden kulkusuuntaa. Tyypillinen etäisyys näytteen ja ilmaisimen välillä on noin 12 cm.

Sirontamittaukset suoritettiin kohtisuoraan läpäisygeometriaa (*perpendicular transmission geometry*) hyväksikäyttäen, jossa näytteeseen ja siihen kohdistettujen röntgensäteiden välinen kulma oli 90 astetta, ja jossa näytteen läpäisseiden ja siitä sironneiden röntgensäteiden intensiteetti mitattiin näytteen vastakkaisella puolella sijaitsevan ilmaisimen avulla. Röntgensäteily tuotettiin kuparianodisella röntgenputkella (PANalytical B.V, PW2213/20), josta suodatettiin monokromaattorin avulla Cu K $\alpha$  aallonpituutta vastaavaa säteilyä ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ). Monokromaattorina käytettiin monikerroksista volframpeiliä (Montel, Incoatec). Röntgenputken tehollähteenä käytettiin korkeajännitegeneraattoria (Rich. Seifert & Co, ID 3003), jossa käyttöjännite ja -virta olivat  $U = 36 \text{ kV}$  ja  $I = 25 \text{ mA}$ . Mittausten ajaksi näytteet asetettiin Helsingin yliopiston, fysiikan laitoksen pajalla mittatilaustyönä Tonewood-projektia varten valmistettuun näytetelineeseen. Näytteitä mitattiin yksitellen 20 minuuttia kerrallaan ja niistä sironneen röntgensäteilyn intensiteetti kerättiin

kaksiulotteiselle kuvalevyilmaisimelle (mar345, marXperts), ja niistä tallennettiin diffraktiokuvio koko ilmaimen alueelta (halkaisija 345 mm), jossa pikselikokona käytettiin  $150\ \mu\text{m}^2$ . Mittauslaitteiston kulmaskaala  $2\theta$  -kulmille kalibroitiin lantaniumheksaboridi ( $\text{LaB}_6$ ) -näytteen avulla. Lantaniumheksaboridin 200-heijastuskulmien puoliarvonleveydestä määritettiin lisäksi laitteiston aiheuttama vaikutus sirontadataan, joka 200- heijastuksen sirontakulmille  $2\theta$  on noin 0,3550 astetta.

#### 4.3 Mittaukset ja tulosten analysointi

##### 4.3.1 Muun säteilytaustan vähentäminen mittaustuloksista

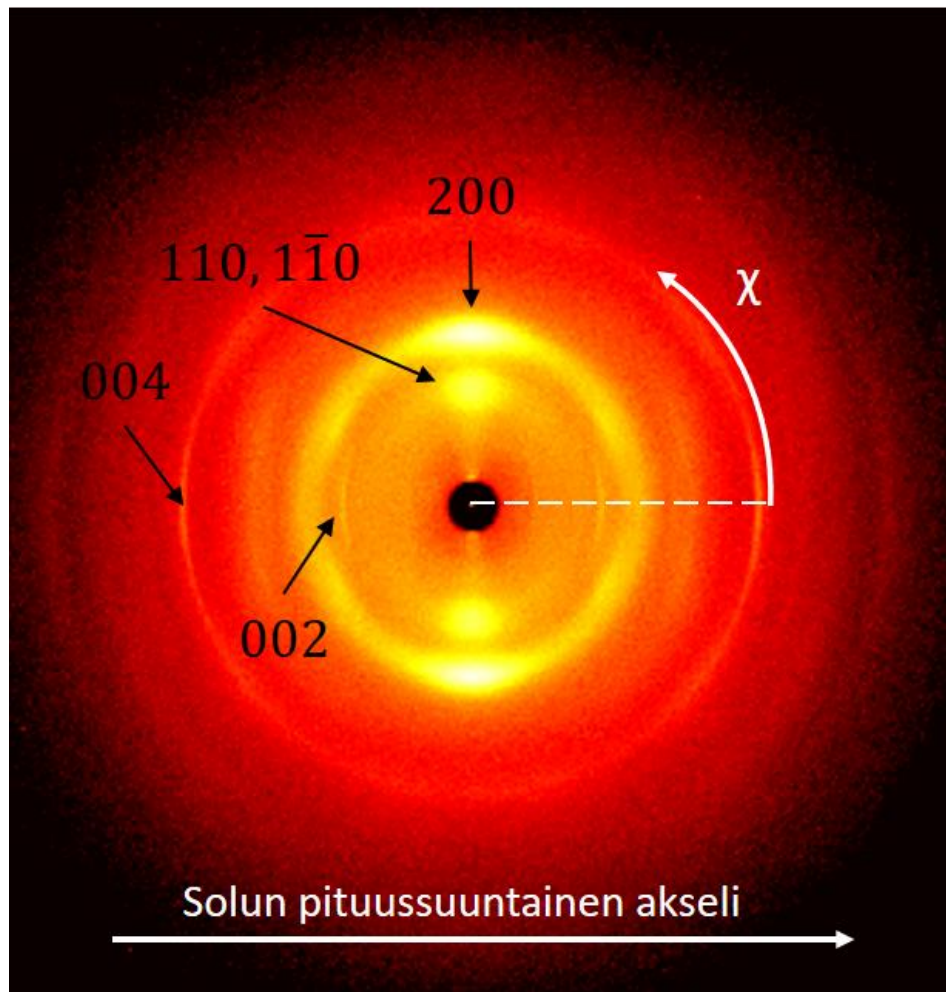
Näytteistä mitattu intensiteetti on kaikkien röntgensäteilyä sirottavien komponenttien summa, jolloin se sisältää myös esimerkiksi ilman ja näytteiden mahdollisesti sisältämän kiteisten aineiden aiheuttamaa sirontaa. Lisäksi ilmaisimelle kertyy ns. pimeää virtaa (*dark current*), joka tulee myös vähentää mitatusta intensiteetistä.

Näytteille mitattiin ilmasironta ja pimeä virta, jotka vähennettiin näytteistä mitatusta intensiteetistä datankäsittelyssä. Ilmasironnan ja pimeän virran mittaussijat olivat suuruudeltaan samat kuin varsinaisten mittausten mittausaika. Näytteistä sironneiden röntgensäteiden intensiteetin absorptiokorjaus otettiin huomioon datankäsittelyssä ja se laskettiin primäärisäteen, ilmataustan ja pimeän virran avulla.

##### 4.3.1 Kiteisyys ja kidekoko

Puunäytteistä sironneen röntgensäteilyn lisäksi ilmasta sironnut röntgensäteily mitattiin taustan aiheuttaman kontribuution selvittämiseksi. Näytteiden kiteisyyden laskemiseksi mitatusta intensiteetistä vähennettiin sulfaattiligniini-tausta, sisältäen myös amorfisen selluloosan osuuden, ja dataan sovitettiin kiteisen I $\beta$ -selluloosan mallia [34], josta arvo kiteisen selluloosan osuudelle laskettiin kaavan (14) avulla. Tason (004) heijastusta ei valitettavasti data-analyysissä voitu käyttää, sillä puunäytteistä sironneen röntgensäteilyn mitattu intensiteetti tällä heijastuksella ei ollut tarpeeksi voimakas käytetyllä mittauserometrialla. Lisäksi muita vahvasti näkyviä heijastuksia, kuten tasojen (110) ja ( $1\bar{1}0$ ) heijastuksia, ei voitu käyttää, sillä puissa olevien selluloosakiteiden ollessa pieniä, kyseisten tasojen intensiteettimaksimien erottaminen toisistaan on haastavaa.

Kidekoko arvioitiin heijastuksen 200 aiheuttaman Braggin piikin puoliarvon leveydestä, Scherrerin kaavaa (12) käyttäen.



Kuva 13. Vaahteran ilmaisimelle aiheuttama diffraktiokuvio. Kuvaan on merkitty tasoja (200), (110), ( $1\bar{1}0$ ), (002) ja (004) vastaavat heijastukset ja atsimuuttikulma  $\chi$ .

#### 4.3.2 Mikrofibrillikulma

Mikrofibrillikulma määritettiin puunäytteistä tason (200) heijastuksen avulla. Mikrofibrillikulmien suuruuden määrittämiseksi sirontadatasta laskettiin normitettu atsimuuttikulmaintegraali 180 asteen alueelta. Saaduista atsimuuttikulmaintegraalien arvoista piirrettiin kuvaaja, joihin sovitettiin tangentit. Näiden tangenttien ja atsimuuttikulman puoliarvonleveyden avulla määritettiin kuvaajasta T-parametri kaavan 15 avulla, jonka avulla laskettiin keskimääräisen mikrofibrillikulman arvo eri puunäytteille. Esimerkki koivunäytteelle tehdystä T-parametrisovituksesta löytyy liitteistöstä (kuva 19).

T-parametrin johtamiseen sisältyy oletus mittausgeometriasta, jossa puunäyte on asetettu röntgensäteiden eteen niin, että solujen pituussuuntainen akseli on kohtisuorassa suhteessa tuleviin röntgensäteisiin. Alkuperäisistä puupaloista on miltei mahdotonta leikata sellaisia näytteitä, joissa yllä mainittu geometria toteutuisi, jonka takia 200-heijastuksen intensiteettikäyrät voivat olla leventyneitä. Tällöin on todennäköistä, että saadut mikrofibrillikulmien arvot ovat hieman liian suuria.



#### 4.3.3 Trooppisten puiden uuteaineet

Trooppisten puiden sisältämiä, epäorgaanisia uuteaineita arvioitiin alkuperäisestä sirontadatasta. Ilmaisimelta kerätyssä sironkuviossa kiteiset uuteaineet näkyvät kirkkaina pisteinä (diffraktiomaksimeina), jotka pääsääntöisesti olivat levittäytyneet kuvaan tasaisesti. Datankäsittelyssä kyseiset diffraktiomaksimit aiheuttivat aluksi paljon ongelmia, jotka ratkaistiin tähän tarkoitukseen kirjoitetulla Matlab-koodilla. Koodin avulla alkuperäinen sirontadata käsitellään erityisen mediaanisuodattimen (*median filtering*) avulla, joka poistaa ylimääräistä intensiteettiä eli kohinaa kaksiulotteisesta sironnakuvasta. Puunäytteistä mitatuissa sironnakuvissa sen jokainen pikseli sisälsi numeerista informaatiota, jota suodatin vertasi kyseisen pikselin naapuripikseleiden arvoihin. Mikäli käsitelty pikseli ylitti viereisten pikselien mediaanin ja ennalta määrätyn raja-arvon, se poistettiin datasta koskematta muuhun sisältöön. Selkeät selluloosan intensiteettimaksimit ja primäärisäde jätettiin alkuperäisiin sironnakuviin. Esimerkkinä liitteistöstä löytyvä gabonineebenpuun sironnakuva (kuva 18) ennen ja jälkeen muun kiteisen materiaalin aiheuttaman kohinan (intensiteettimaksimien) poistamisen.

Kirjallisuuden [52] [55] perusteella valittiin todennäköisimmät puun sisältämät, kiteiset uuteaineet, jotka tämän tutkimuksen puulajeille olivat kalsiumoksalaatti  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ , kalsiumkarbonaatti  $\text{CaO}_3$ , kalsiumsulfaatti  $\text{CaSO}_4$  ja piioksidi  $\text{SiO}_2$ . Kalsiumkarbonaatilla ja piioksidilla esiintyy polymorfiaa, ja esimerkiksi kasveissa on todettu esiintyvän kiteisen piioksin polymorfeista seuraavia:  $\alpha$ -kvartsia, tridymiittiä ja kristobaliittia [79]. Kalsiumkarbonaatin tapauksessa tarkasteltiin stabiileinta kiteistä polymorfia. Tutkittujen yhdisteiden vahvimpien diffraktiopiikkien sironnakulmat tarkistettiin RUFF-projektin ylläpitämältä nettisivustolta [80] ja niitä verrattiin trooppisten lehtipuiden sirontadatasta poistettuihin piikkeihin sovittamalla ne samaan kuvaajaan  $2\theta$  -kulmilla väliltä  $10$ – $50^\circ$ .

## 5. Tulokset

Alla olevassa taulukossa on esitelty röntgensirontamittausten datasta lasketut tulokset mikrofibrillikulmasta, kiteisyydestä ja kidekoosta jokaiselle puulajille erikseen. Kaikkien määritettyjen parametrien on oletettu olevan normaalijakautuneita. Joidenkin puulajien kohdalla näytteiden laadusta ja lukumäärästä johtuen kidekoko ja kiteisyys on määritetty kahdelle näytteelle. Näytteiden välisien erojen merkittävyyksiä arvioitiin lisäksi tilastollisesti Studentin t-testin avulla, merkitsevyystasolla 0,05. Tässä kappaleessa esitetään tulokset ja niiden kommentointi on pääsääntöisesti sisällytetty kappaleeseen 6.

Kasvualue	Suom. kielinen nimi	Lkm	<MFA> (°)	CI (%)	L <sub>200</sub> (Å)
Lauhkean vyöhykkeen havupuut	Kuusi	4	9,7 ± 1,8	27,1 ± 0,9	30,5 ± 0,6
	Mänty	3	16,8 ± 1,7	25,3 ± 0,9	30,0 ± 1,0
	Jättituija	3	12,9 ± 3,3	21,8 ± 2,3	31,3 ± 0,6
	<b>Kaikki havupuut</b>	<b>10</b>	<b>12,8 ± 3,7</b>	<b>24,8 ± 2,6</b>	<b>30,6 ± 0,8</b>
Lauhkean vyöhykkeen lehtipuut	Vuorivaahtera	4	17,9 ± 3,6	32,8 ± 1,5	28,8 ± 1,3
	Vaahtera**	7	18,3 ± 4,8	32,6 ± 1,7	28,3 ± 1,1
	Tervaleppä	3	9,0 ± 1,3	27,9 ± 1,1	29,7 ± 0,6
	Rauduskoivu	4	12,3 ± 2,6	29,3 ± 1,7	29,8 ± 0,5
	Saarni	3	15,1 ± 6,9	32,2 ± 1,0	28,7 ± 1,2
	Haapa	3	11,9 ± 5,1	29,5 ± 1,7	31,3 ± 1,5
	Tammi	3	13,6 ± 1,5	27,5 ± 4,5	29,0 ± 1,0
	Jalava	3	18,6 ± 4,6	28,2 ± 2,8	29,0 ± 1,0
	<b>Kaikki lehtipuut</b>	<b>26</b>	<b>14,7 ± 5,1</b>	<b>30,1 ± 2,8</b>	<b>29,2 ± 1,3</b>
Trooppisen ja subtrooppisen vyöhykkeen lehtipuut	Intianpalisanteri	3	11,0 ± 3,0	29,9 ± 6,1	30,0 ± 1,4
	Brasilianpalisanteri	3	21,0 ± 7,0	26,3 ± 1,4	30,3 ± 0,6
	Celebesineeбенpuu	3*	8,8 ± 1,0	26,1 ± 1,6	28,0 ± 1,4
	Gabonineeбенpuu	2	15,5 ± 1,7	27,2 ± 1,4	27,0 ± 0,5
	Sapelemahonki	2	11,8 ± 2,7	25,6 ± 0,9	31,0 ± 0,2
	Kopaalipuu	3	10,9 ± 4,1	25,8 ± 1,0	29,7 ± 3,1
	Veripihkapuu	3*	10,1 ± 1,2	25,3 ± 5,7	31,5 ± 0,7
	Amerikanaitomahonki	3	13,5 ± 1,7	30,6 ± 2,6	30,3 ± 1,1
	<b>Kaikki trooppiset lehtipuut</b>	<b>22</b>	<b>12,7 ± 4,7</b>	<b>27,7 ± 4,1</b>	<b>29,8 ± 1,8</b>
	<b>Kaikki puulajit</b>	<b>58</b>	<b>13,6 ± 4,8</b>	<b>28,3 ± 3,8</b>	<b>29,7 ± 1,5</b>

Taulukko 2. Mitattujen puulajien näytteiden määrä (Lkm.), keskimääräinen mikrofibrillikulma <MFA>, kiteisyys CI ja kidekoko L<sub>200</sub> taulukoituna. Tähdellä (\*) -merkittyjen näytteiden kohdalla kidekoon ja kiteisyyden määrittämiseen on käytetty kahta näytettä.

Kaikki esitetyt parametrit ovat lajikohtaisia keskiarvoja ± keskihajontoja. (\*\*) Vaahteroille (*Acer spp.*) tarkastelu on tehty sukutasolla, jolloin niille saadut <MFA>, CI ja L<sub>200</sub> -arvot sisältävät myös vuorivaahterat.

## 5.1 Mikrofibrillikulma

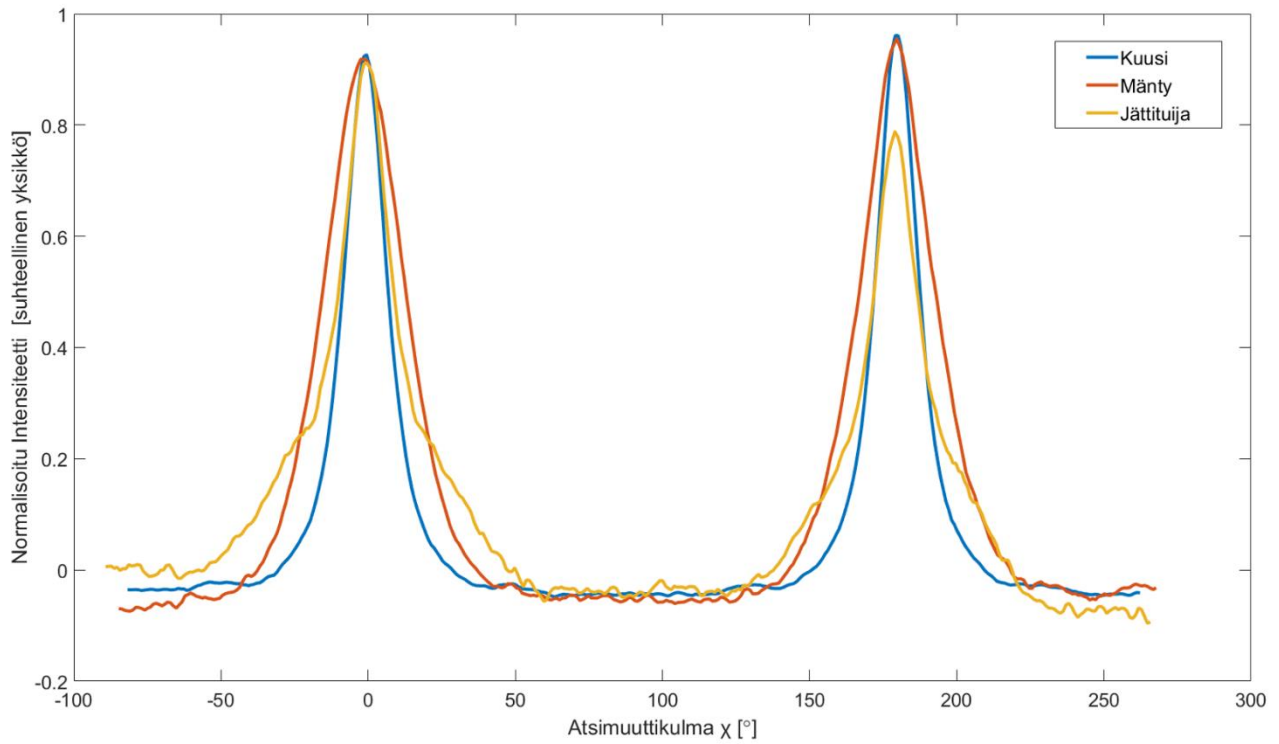
Taulukossa 2 on esitetty tutkittujen puulajien 200 -heijastuksista laskettu keskimääräisen mikrofibrillikulman arvo virherajoineen. Lisäksi kaikille puulajeille generoitiin keskimääräiset atsimuuttikäyrä-kuvaajat alla (kuvat 14-16), joissa tutkitut puulajit on esitelty ilmastovyöhykkeittäin puutyypistä riippuen. Mikrofibrillikulman arvot määritettiin eri puulajien näytekohtaisista atsimuuttikuvaajista T-parametrin avulla, ja niistä laskettiin lajikohtainen keskiarvo ja keskihajonta mikrofibrillikulmalle. Liitteistössä on esitetty koivulle (kuva 20) ja kopaalipuulle (kuva 21) omat atsimuuttikuvaajat, joista ilmenee millaisista käyristä lajikohtainen, keskimääräinen atsimuuttikuvaaja on muodostettu.

Lauhkean vyöhykkeen havupuiden tapauksessa mikrofibrillikulma näyttää sijoittuvan kulmavälille  $9-17^\circ$ , ja olevan keskimäärin  $12,8 \pm 3,7^\circ$ . Lajikohtaisesti tarkasteltuna kuuselle keskimääräinen MFA on väliltä  $8-12^\circ$ , männylle  $15-18^\circ$  ja jättituijalle  $9-16^\circ$ . Havupuiden osalta tulokset ovat yhteneviä aikaisempien röntgensirontamittauksista saatujen tulosten kanssa [41] [81] [82].

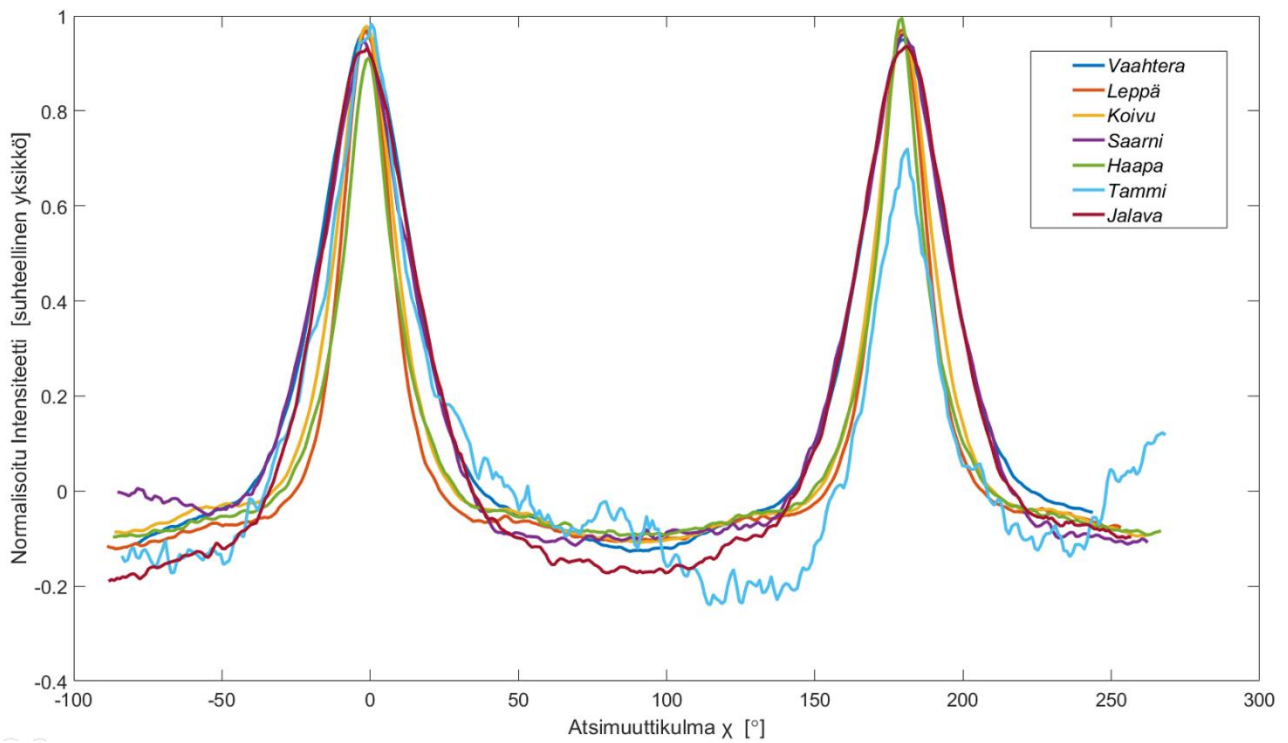
Lauhkean vyöhykkeen lehtipuille MFA:n oli väliltä  $9-19^\circ$  ja keskimääräinen mikrofibrillikulma oli  $14,7 \pm 5,1^\circ$ . Suurimmat mikrofibrillikulmat ovat jalavalla ja vaahteroilla, jotka olivat noin  $18 - 19^\circ$ . Niiden lajien osalta, joille mikrofibrillikulman suuruudesta löytyy tutkimustietoa, saadut tulokset ovat yhtäpitäviä kirjallisuusarvojen kanssa. Esimerkiksi muissa tutkimuksissa saadut mikrofibrillikulman arvot koivulle (*Betula pendula*) ovat väliltä  $9,4-18,3^\circ$  [83] ja tervalepälle (*Alnus glutinosa*) noin  $11,6^\circ$  [82].

Trooppisille lehtipuille keskimääräinen mikrofibrillikulma oli  $12,7 \pm 4,7^\circ$ , vaihdellen välillä  $6-27^\circ$ . Suurin mikrofibrillikulma tulosten perusteella on brasilianpalinsaterilla (*Dalbergia nigra*), jonka keskiarvoksi saatiin  $21,0 \pm 7,0^\circ$ . Trooppisista puista mahongille (*Swietenia macrophylla*) löytyi kirjallisuudesta vertailuarvo mikrofibrillikulman suuruudesta, joka oli noin  $13,7^\circ$  [82], joka on lähes sama kuin tässä tutkimuksessa saatu arvo sisältäen keskihajonnan.

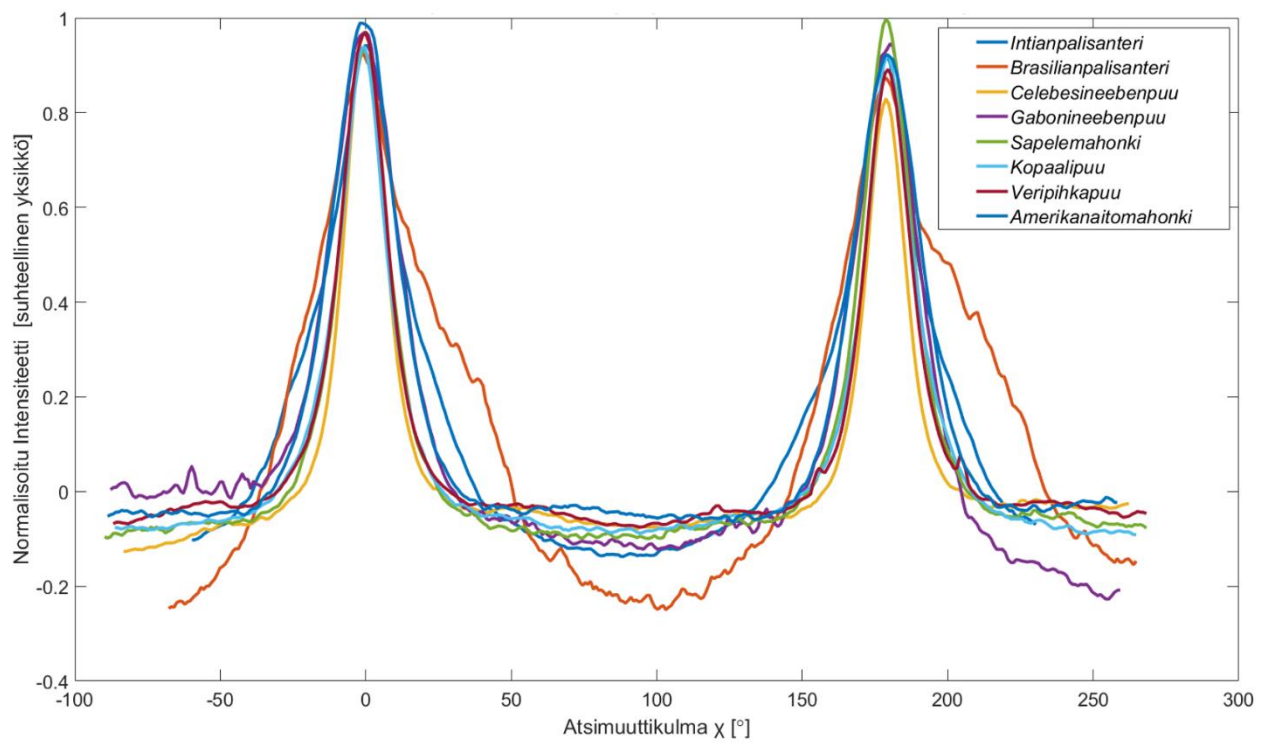
Tuloksissa näkyy ero mikrofibrillikulmien keskiarvojen suuruuksissa trooppisten ja lauhkean vyöhykkeen lehtipuiden välillä, mutta Studentin t-testin perusteella eroa ei voida pitää tilastollisesti merkittävänä. Suvun sisällä tarkasteltuna, esimerkiksi *Dalbergia*-suvun puiden välillä mikrofibrillikulmien keskiarvossa keskihajonnat huomioiden on eroavaisuuksia, mutta ne eivät ole tilastollisesti suuria. Samansuuntaiset tulokset saatiin myös eebenpuiden ja vaahteroiden tapauksessa.



Kuva 14. Lauhkean vyöhykkeen havupuiden lajikohtaiset keskiarvoatsimuuttikuvaajat.



Kuva 15. Lauhkean vyöhykkeen lehtipuiden lajikohtaiset keskiarvoatsimuuttikuvaajat.



Kuva 16. Trooppisen ja subtrooppisen vyöhykkeen lehtipuiden lajikohtaiset keskiarvoatsimuuttikuvaajat.

## 5.2 Kiteisyys ja kidekoko

Tutkituille puille saadut kiteisyysarvot ja selluloosakiteiden koko on lueteltu taulukossa 2. Puun sisältämän kiteisen selluloosan osuudelle saatiin lajikohtaisesti vaihtelevia arvoja väliltä 22 – 32 %. Lauhkean vyöhykkeen havupuille kiteisyys oli keskimäärin noin  $24,8 \pm 2,6$  % ja lehtipuille vastaavasti  $30,1 \pm 2,8$  %. Trooppisiin lehtipuihin kuuluvien lajien joukossa kiteisen selluloosan osuus oli keskimäärin luokkaa  $27,7 \pm 4,1$  %. Tulosten perusteella pienintä kiteisyys oli havupuulajeilla ja ero kaikkiin lehtipuulajeihin verrattuna oli tilastollisesti merkittävä. Selkeää tilastollista eroa oli myös lauhkean ja trooppisen vyöhykkeiden lehtipuulajien kiteisyyksien välillä. Mittausten perusteella eniten kiteistä selluloosaa lehtipuista on saarnessa ja mahongissa, joista kummallakin kiteisyys oli yli 30%. Sukujen sisällä, kuten *Dalbergia latifolia* ja *Dalbergia nigra* puita vertailtaessa erot kiteisyyksissä näytteiden välillä eivät olleet tilastollisesti merkittäviä. Kaiken kaikkiaan jokaisen puulajin kiteisen selluloosan osa on pienempi aiempiin tutkimuksiin verrattuna, joissa kiteisen selluloosan osuudeksi havupuissa on saatu noin 40 – 60 % [84] [85] [86]. Lehtipuissa vastaavasti kiteisen selluloosan osuudeksi on saatu määritystavasta riippuen noin 30 – 56 % [87].

Selluloosakiteiden keskimääräinen kidekoko havupuissa oli  $30,6 \pm 0,8$  Å ja lauhkean vyöhykkeen lehtipuissa  $29,2 \pm 1,3$  Å. Trooppisen alueen lehtipuille kidekoko oli sama kuin muille lehtipuille ja keskimääräisesti noin  $29,8 \pm 1,8$  Å. Havupuihin kuuluvien puulajien välillä kidekoon vaihtelu oli huomattavasti vähäisempää kuin trooppisten ja lauhkean vyöhykkeen lehtipuiden. Ero keskimääräisessä kidekoossa eri lehtipuulajien välillä ja sukujen sisällä ei ollut tilastollisesti merkittävää, ja kidekoot olivat saman suuruiset keskihajontojen puitteissa. Lauhkean vyöhykkeen puulajien tapauksessa havu- ja lehtipuiden keskimääräiset kidekoot olivat virherajojen puitteissa saman suuruiset, mutta tilastollisesti tarkasteltuna niiden välillä oli selkeä ero. Pääsääntöisesti eri puulajeille saadut kidekokoarvot olivat keskenään saman suuruisia ja lähes identtisiä aiemmissa tutkimuksissa saatujen arvojen kanssa [84] [86].

## 5.3 Trooppisten lehtipuiden epäorgaaniset uuteaineet

Liitteissä 22-27 on esitelty tutkittujen trooppisten puiden uuteaineita sirontadatasta. Selkeästi eniten kiteisiä uuteaineita sisälsivät palisanteri- ja eebenpuunäytteet sirontadatasta poistettujen piikkien perusteella. Vähiten kiteisiä yhdisteitä sisälsivät vastaavasti Sapelemahonki, Kopaalipuu ja Veripihkapuunäytteet, joilla poistettuja Braggin piikkejä oli huomattavasti vähemmän.

Amerikanaitomahongin tapauksessa kiteisen aineen aiheuttamia diffraktiopiikkejä oli harvassa, mutta niistä voimakkaimmat vastasivat samoja heijastuskulmia kuin palisanteri- ja eebenpuunäytteiden intensiivisimmät piikit. Tutkittuja kiteisiä aineita olivat kalsiumoksalaatti ( $\text{CaC}_2\text{O}_4$ ), kalsiumkarbonaatti ( $\text{CaCO}_3$ ), kalsiumsulfaatti ( $\text{CaSO}_4$ ) ja piioksidi ( $\text{SiO}_2$ ).

Vahvimmat uuteaineiden piikit lähes kaikissa puunäytteissä sijoittuvat  $2\theta$ -kulmien arvoille 15, 25 ja 30 astetta. Suurin piirtein samoille kulmille osuvat myös kalsiumoksalaattikiteiden tuottamat voimakkaimmat

diffraktiopiikit arvoilla  $2\theta = 14.94^\circ$ ,  $2\theta = 24.41^\circ$  ja  $2\theta = 30.13^\circ$ . Näytteistä poistettuihin diffraktiopiikkeihin sopivat lisäksi kalsiumkarbonaattikiteiden vahvimmat heijastukset kulmilla  $2\theta = 29.42^\circ$  ja  $2\theta = 39.43^\circ$ .

Kalsiumsulfaatti- ja piioksidikiteiden tapauksessa niiden aiheuttamat diffraktiopiikit eivät selkeästi vastanneet yhtäkään puiden sirontadatan piikkiä. Osa tutkituista puunäytteiden sirontadatasta sisälsi myös piikkejä, jotka eivät vastanneet yhdenkään tutkitun uuteaineen tunnettuja heijastuksia. Esimerkiksi palisanterinäytteiden uuteainekuvaajassa (kuva 24) noin kulmalla  $2\theta = 46^\circ$  on selkeä piikki, joka ei vastaa mitään tutkittua yhdistettä.

Kiteisten uuteaineiden ja puunäytteiden sirontadatan piikkien vastaavuuksien ja kirjallisuuden [52] [55] perusteella on todennäköistä, että tutkittujen puunäytteiden sisältämä kiteinen yhdiste on pääasiassa kalsiumoksalaattia ja kalsiumkarbonaattia.

## 6. Tulosten käsittely ja pohdintaa

Kaikkien tutkimuksessa mukana olleiden puulajien mikrofibrillikulma asettui välille  $9-20^\circ$ , joka kirjallisuuden [37] perusteella vastaisi pääsääntöisesti sekundäärisoluseinän  $S_2$ -kerroksen mikrofibrillikulmia olettaen, että keskimäärin  $S_2$ -kerroksen kiteiset mikrofibrillit vastaisivat tässä tutkimuksessa suurimmasta osasta tapahtunutta röntgendiffraktiota. Sekundääriseinän  $S_1$ - ja  $S_3$ -kerroksissa on kuitenkin myös kiteisiä selluloosamikrofibrillejä, joiden kulmien osuutta datassa ei ole arvioitu. Caven *T-parametrimetodi*, jota tässä tutkimuksessa käytettiin juuri mikrofibrillikulmien selvittämiseen, olettaa, että mikrofibrillikulmajakauma olisi kokonaisuudessaan normaalijakautunut, jolloin mahdolliset  $S_1$  ja  $S_3$ -kerroksien hyvin pienien ( $MFA < 10^\circ$ ) ja suurien ( $MFA > 30^\circ$ ) mikrofibrillikulmien osuudet koko jakaumasta ovat pieniä.

Saadut mikrofibrillikulmien arvot ovat todennäköisesti todellisiin kulmiin verrattuina liian suuria, joka johtuu itse käytetystä T-parametrimetodista. Kuten aiemmin mainittu (kappale 3.2.5.3), T-parametrimetodiin sisältyy oletus, että mikrofibrillikulman ja sen keskihajonnan suhde  $\sigma/M$  olisi melko tarkalleen  $1/3$ . Toisen julkaisun [70] valossa tämä suhde olisi aliarvioitu ja tuottavan liian suuria mikrofibrillikulmien arvoja. Kyseisen tutkimuksen mukaan oikeampi arvo suhteelle olisi  $0.3-1.7$ , jonka perusteella tässä opinnäytetyössä saadut mikrofibrillikulmien arvot edustaisivat keskimääräistä ylärajaa mikrofibrillikulmien suuruksille puulajeittain.

Mikrofibrillikulman määrittämiseen käytetty T-parametri sisältää lisäksi oletuksen mittausgeometriasta, jossa röntgensäteiden taso ja solun pituussuuntainen akseli ovat kohtisuorassa toisiaan vastaan niin että röntgensäteet kohdistuvat puunäytteen säteen- tai tangentialiseen pintaan. Joidenkin puulajien kohdalla alkuperäisen puukappaleen solukko vaikutti olevan vinossa rungon oletetun kasvuakselin suhteen, jolloin puukappaleista ei ollut mahdollista sahata täysin solukon suuntaisia näytepaloja. Lisäksi pieni osa trooppisista näytepuista oli tiheydeltään niin suuria, että niistä oli käytettävissä olevien valmistusmenetelmien avulla mahdotonta valmistaa täysin tasapaksuja ja suoria paloja. Näille näytteille ei edellä mainituista syistä voi täysin olettaa T-parametrimetodin vaatiman mittausgeometrian toteutuneen. Cave artikkelissaan kuitenkin ottaa kyseiseen ongelmaan kantaa ja osoittaa, että näytteen orientaatio röntgensäteiden tasossa vaikuttaa hyvin vähän mittaustuloksiin ja T-parametrin avulla saatuun mikrofibrillikulman arvoon. Artikkelissa ei kuitenkaan huomioida sitä, miten puunäytteen kallistaminen röntgenlähteen suuntaan tai siitä poispäin vaikuttaa muodostuneeseen sirontakuviin ja edelleen mikrofibrillikulman arvoon. Joidenkin puulajien kohdalla on todennäköistä, että saaduissa mikrofibrillikulmien arvoissa on niiden puusolukon vinoudesta, näytteiden valmistusmenetelmästä ja kallistuksesta johtuvaa virhettä.

T-parametria voi käyttää mikrofibrillikulman määrittämiseen poikkileikkaukseltaan pyöreästä tai neliskulmaisesta solusta, ja siksi kyseistä menetelmää käytettiin tässä tutkimuksessa. Todellisuudessa solujen koko ei ole yksiselitteisesti neliskulmainen tai pyöreä, ja se vaihtelee suuresti jo pienellä alueella puun



ksyleemissä. Erityisesti lehtipuissa solujen keskimääräinen muoto poikkileikkaussuunnassa vaihtelee voimakkaasti pyöreistä ja ovaalimaaisista neliskulmaisiin soluihin, jonka lisäksi muodoltaan erilaisten solujen tiheys ksyleemissä vaihtelee eri lehtipuulajien välillä (kehäputkiloinen v. hajaputkiloinen) [41] [88]. Nämä ominaisuudet vaikuttavat siihen, miten röntgensäteet absorboituvat ja siroavat puun rakenteissa ja millainen muodostunut sirontakuvio on, ja tätä kautta tutkittavien parametrien arvoihin. Mikrofibrillikulman arvoissa on siksi todennäköisesti sen määrittämiseen käytetystä menetelmästä johtuvaa virhettä, sillä T-parametrissa ei oteta kantaa solutyypin tiheyteen tai muotovaihteluun.

Näytteistä johtuvaa virhettä mittaustuloksissa on myös se, että tietoa puiden iästä, näytteen vuosirenkaista tai puun laadusta (sydän- tai pintapuu) ei ollut saatavilla. Puussa keskimääräinen mikrofibrillikulma vaihtelee vuosirenkaiden funktiona kevät- ja kesäpuun välillä, jolloin tarkkojen mikrofibrillikulmien arvojen määrittämiseksi tutkittavista puista tulisi vähintään olla informaatiota, mitä vuosirenkaita näyte mahdollisesti sisältää. Ilman näitä tietoja saadut mikrofibrillikulmien arvot kuvaavat lähinnä keskimääräistä mikrofibrillikulmaa koko puun poikkileikkauksen yli eivätkä anna ns. tarkkaa kuvaa mikrofibrillikulman suuruudesta vuosirengasalueittain. Tämä myös vaikeuttaa saatujen mikrofibrillikulmien vertailua muiden tutkimusten tuloksiin, joissa lähes poikkeuksetta mikrofibrillikulmien arvot on määritetty tietyille vuosirenkaille.

Mitatuista puunäytteistä ei lisäksi ollut tietoa, sisälsivätkö ne mahdollisesti reaktiopuuta, jossa mikrofibrillikulmien arvot ja kiteisen selluloosan osuudet poikkeavat normaalista puusta. Aiemmassa tutkimuksessa [43] mikrofibrillikulman on osoitettu olevan selkeästi suurempi  $S_1$  ja  $S_2$  soluseinissä (noin 89 ja 39 astetta) havupuiden kompressiopuussa verrattain normaaliin puusolukkaan. Näin suuria arvoja ei mikrofibrillikulmille näille näytteille kuitenkaan saatu. Reaktiopuussa kiteisen selluloosan osuus on hyvin korkea, ja sen tulisi myös näkyä tuloksista. Keskiarvoa selkeästi korkeampaa kiteisyyttä ei kuitenkaan havaittu mistään näytteestä. Havupuissa reaktiopuun voi lisäksi tunnistaa jo silmämääräisesti sen ollessa tummempaa normaaliin puusolukkaan verrattuna, mutta tätä yhdessäkään havupuu näytteessä huomattu. Mikrofibrillikulmien tapauksessa selkeitä, suuria poikkeamia sen keskiarvosta ilmastovyöhykkeittäin ei tutkituille näytteille havaittu, josta ei silti voida sulkea pois mahdollisen kompressiopuun kontribuutiota tuloksiin.

Kiteisen selluloosan osuus vaihteli eri ilmastovyöhykkeiden lehti- ja havupuissa, ja oli selkeästi alhaisempi muihin tutkimuksiin verrattuna. Alhaiset kiteisyyden arvot kaikille lajeille olivat yllättäviä verrattain muihin tutkimustuloksiin [84] - [87], ja kertovat esimerkiksi datankäsittelyssä vähennetyn taustan sopivuudesta tähän tutkimukseen. Saadut kiteisyysarvot riippuvat myös voimakkaasti niiden määrittämiseksi käytetystä analyysimenetelmästä, ja kiteisyydelle saadut tulokset ovat vertailukelpoisia lähinnä samalla menetelmällä saatujen, muiden tutkimustulosten kanssa [89]. Tästä syystä saadut kiteisyysarvot voivat olla luotettavia eivätkä ne välttämättä ole virheellisiä, vaikka ne ovatkin erisuuria muiden julkaisujen, eri menetelmällä

tuotettujen

kiteisyysarvojen

kanssa.

Sirontadatasta vähennetty ligniinisulfaattitausta ei esimerkiksi huomioi puusolukon vedestä tai eri hemiselluloosista johtuvan sironnan kontribuutiota huomioitavaan taustasirontaan. Universaalia sirontamallia hemiselluloosille ei ole saatavilla, eikä sitä ole edes mahdollista generoida hemiselluloosatyyppien vaihdellessa paljon havu- ja lehtipuiden välillä ja lisäksi jopa lajin sisällä. Trooppisten lehtipuiden tapauksessa sirontataustaa generoitaessa, siihen tulisi sisällyttää myös ei-rakenteelliset uuteaineet ja erityisesti kiteisessä muodossa esiintyvät epäorgaaniset yhdisteet. Kiteisten uuteaineiden yksittäiset kiteet saattavat niiden orientaatiosta ja sijainnista puusolukossa riippuen diffraktoida röntgensäteilyä, joka näkyy sirontadatassa voimakkaina piikkeinä. Nämä piikit vaikeuttavat data-analyysyä, joka tuli tässäkin tutkimuksessa ilmi. Osittain näiden piikkien vaikutuksen takia oli yllättävää, että trooppisten lehtipuiden kiteisyys oli pienempää kuin lauhkean vyöhykkeen lehtipuiden, joilla kiteisten uuteaineiden osuus on keskimäärin hyvin pientä.

Pienet kiteisyysarvot kertovat mahdollisesti myös dataan sovitetun  $I_{\beta}$ -selluloosa sirontamallin sopivuudesta. Liian hyvä sovitus saattaa vaikuttaa vähentävästi mittausdataan ja tuottaa pieniä kiteisyysarvoja. Itse malli on kuitenkin todettu toimivaksi [89], mutta se ei ole välttämättä ideaalisin tapa tutkia kiteisyyttä tämän tutkimuksen näytesarjassa. Osittain ongelmallista on myös eri puulajeille saatujen kiteisyysarvojen vertaaminen muihin tutkimuksiin, joissa selluloosan kiteisyyttä on voitu tutkia eri mittaus- ja analyysimenetelmin, jolloin niistä saadut tulokset eivät ole suoraan vertailukelpoisia.

Näytesarjan puille saatu selluloosakiteiden leveys tulosten perusteella vaikuttaa olevan melko identtinen eri puulajien ja saman lajin yksilöiden välillä. Tämä tulos ei sinällään ole yllättävä, sillä  $I_{\beta}$ -selluloosan kiderakenteen ja hilaparametrien uskotaan määritellyn ketjumallin (36 tai 24-ketjuinen) sisällä olevan universaali. Kidekoon määrittämiseksi käytetty Scherrerin kaava on yleisin työkalu selluloosaa sisältävien materiaalien karakterisoinnissa, jonka takia sitä käytettiin myös tässä tutkimuksessa. Saatujen kidekoiden suuruuteen vaikuttaa myös selluloosakiteiden orientaatio ja sijainti soluseinässä, ja itse näytteen orientaatio suhteessa siihen saapuviin röntgensäteisiin. Huonosti sijoitetussa näytteessä röntgensäteet eivät siroa optimaalisesti, jolloin ilmaisimella ei välttämättä nähdä kaikkia mahdollisia heijastuksia. Tuloksien ollessa hyvin johdonmukaisia yksittäisten näytteiden välillä, on oikeutettua olettaa, että näytteiden orientaation vaikutus mittaustuloksiin kidekoon osalta on vähäistä.

Todennäköisesti suurin vaikutus puulajeille mitattuihin parametreihin oli lajikohtaisesti puunäytteiden vähyys. Erityisesti trooppisille puulajeille näytteiden hankkiminen oli hankalaa niiden hinnan ja saatavuuden takia. Esimerkiksi intian- ja brasilianpalisanterin kauppaa on voimakkaasti rajoitettu CITES- sopimuksella, joka osittain aiheuttaa tavarantoimittajan rajoitetun saatavuuden. Lisäämällä näytteiden lukumäärää jokaiselle lajille ja

hankkimalla niitä eri kasvuympäristöistä, parannetaan statistiikkaa saatujen tulosten osalta sekä saadaan lajikohtaisesti edustavampia keskiarvoja mikrofibrillikulmalle, kiteisyydelle ja kidekoolle.

Trooppissa puissa sirontadatan perusteella tutkittujen näytteiden sisältämät kiteiset uuteaineet olivat kalsiumoksalaatti  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  ja kalsiumkarbonaatti  $\text{CaCO}_3$ , joita kirjallisuuden nojalla oletettiin havaittavan. Yllätykseksi ja vastoin kirjallisuuden antamia oletuksia, piioksidia  $\text{SiO}_2$  tai kalsiumsulfaattia  $\text{CaSO}_4$  ei näyttänyt olevan tutkitussa näytteissä juuri ollenkaan. Kyseisten kiteiden puuttuminen saattaa selittyä yksinkertaisesti sillä, että saatu sirontadata vastaa puussa vain hyvin pientä lokaalista ympäristöä, jossa röntgensäteet siroavat. Tällä alueella puun solukossa ei välttämättä ole piioksidi- tai kalsiumsulfaattikiteitä ollenkaan tai vähäisten kiteiden orientaatio on mahdollisesti sellainen, ettei sironnalle otollisia hilatasoja ole läsnä. Kiteisten uuteaineiden heijastuksia olisi mahdollista tuottaa enemmän esimerkiksi jauhetulla puunäytteellä, jolloin kiteiden orientaatio on niin satunnaista, että joidenkin vahvoja heijastuksia tuottavien hilatasojen olisi tultava esiin. Toinen vaihtoehto olisi mahdollisesti rotatoida kiinteää puunäytettä puolikkaan tai kokonaisen ympyrän verran, jolloin puusolukon kiteisten uuteaineiden kidefasoista ainakin osa saataisiin orientoitua niin, että ne tuottaisivat joitakin näkyviä diffraktiomaksimeja. Kaikille trooppisille puille kiteisiä uuteaineita ei sirontadatan perusteella vaikuttanut olevan juuri ollenkaan tai niistä saadut piikit olivat hyvin eri kohdissa vahvimpien uuteaineiden diffraktiopiikkien kanssa. Esimerkiksi sapelemahongin (kuva 26) kuvaajassa ainut selkeä diffraktiopiikki oli noin kulmalla  $2\theta = 38^\circ$ , ja lisäksi palisanterilla oli selkeä piikki kulmalla  $2\theta = 46^\circ$ , jotka eivät vastaa minkään tutkitun uuteaineen heijastuksia. Nämä piikit voivat mahdollisesti olla pelkkää kohinaa tai esimerkiksi puiden sisältämien orgaanisten uuteaineiden kiteisten muotojen tuottamia Braggin piikkejä. Kirjallisuudesta ei kuitenkaan löytynyt viitteitä siitä, että puiden orgaaniset uuteaineyhdisteet voisivat esiintyä puiden solukossa kiteisinä, mutta tätä vaihtoehtoa ei voida sulkea kuitenkaan täysin pois. Kaiken kaikkiaan tulokset kiteisille uuteaineille ovat johdonmukaisia puunäytteiden kesken ja erityisesti palisantereiden ja eebenpuiden tapauksessa vaikuttaa siltä, että kalsiumoksalaatti ja -karbonaattikiteitä on kaikkien puunäytteiden solukossa tutkitulla alueella. Kalsiumyhdisteiden läsnäolon puunäytteissä voisi helposti lisäksi varmentaa esimerkiksi röntgenfluoresenssin avulla, näytteitä tuhoamatta. Tähän ei valitettavasti ollut aikaa tutkimusta tehdessä, mutta röntgenfluoresenssianalyysiä tullaan hyvin todennäköisesti tekemään mitatuille puunäytteille tulevaisuudessa.

Kirjallisuudesta ei juurikaan löydy tutkimuksia näin monen havu- ja lehtipuulajin mikrofibrillikulman, kiteisyyden tai kidekoon määrittämisestä samassa tutkimuksessa. Sisällyttämällä monia erilaisia puulajeja samaan tutkimukseen ja soveltamalla niihin samoja mittaus- ja analyysimetodeja, on niistä saatuja tuloksia helpompaa ja luettavampaa verrata keskenään. Tällöin käytetystä mittalaitteistosta ja menetelmästä johtuvat virheet ovat keskimääräisesti yhtä suuria jokaisessa tutkitussa näytteessä. Tässä työssä saadut tulokset tunnetuille puulajeille, kuten kuuselle ja männylle, vastaavat aiempien

tutkimuksien tuloksia mikrofibrillikulman ja kidekoon osalta, jonka valossa myös ennestään tutkimattomille puille saadut tulokset ovat luotettavia. Erityisesti trooppisten ja subtrooppisten lehtipuulajien osalta tämän opinnäytetyön tyyppistä kansainvälistä tutkimusta ei ole juurikaan tehty, jolloin niille saadut tulokset mikrofibrillikulmasta, kiteisyydestä, kidekoosta ja puiden sisältämistä, kiteisistä uuteaineista antavat uutta tietoa tutkittujen lajien osalta.

## 7. Yhteenveto ja johtopäätökset

Tässä opinnäytetyössä tutkittiin lauhkealla, trooppisella ja subtrooppisella ilmastovyöhykkeillä kasvavien havu- ja lehtipuulajien keskimääräistä mikrofibrillikulmaa, kiteisyyttä ja kidekokoja laajakulmaröntgensironnan avulla. Lauhkean vyöhykkeen havupuille mikrofibrillikulman keskiarvoksi saatiin  $12,8 \pm 3,7$  astetta. Vastaavasti kiteisyys ja selluloosan kidekoko lauhkean vyöhykkeen havupuilla olivat keskimäärin  $24,8 \pm 2,6$  % ja  $30,6 \pm 0,8$  Å. Lauhkean vyöhykkeen lehtipuille mikrofibrillikulma oli  $14,7 \pm 5,1$  astetta, kiteisyys  $30,1 \pm 2,8$  % ja keskimääräinen kidekoko  $29,2 \pm 1,3$  Å. Trooppisten alueiden lehtipuille mikrofibrillikulman keskiarvoksi saatiin  $12,7 \pm 4,7$  astetta, kiteisyydeksi  $27,7 \pm 4,1$  % ja keskimääräiseksi kidekooksi  $29,8 \pm 1,8$  Å. Tilastollisesti merkittävää eroa keskimääräisessä mikrofibrillikulmassa tai kidekoossa eri puutyyppien välillä ei havaittu, mutta kiteisen selluloosan osuukien osalta tuloksissa nähtiin selkeitä eroja. Mikrofibrillikulmassa, kiteisyydessä tai kidekoossa ei havaittu tilastollisesti merkittäviä eroja puusukujen sisällä.

Trooppisten lehtipuiden sirontakuvien avulla arvioitiin lisäksi niiden mahdollisesti sisältämiä epäorgaanisia uuteaineyhdisteitä, joista todennäköisimmät generoitujen kuvaajien perusteella ovat kiteinen kalsiumoksalaatti  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  ja kalsiumkarbonaatti  $\text{CaCO}_3$ .

Laajakulmaröntgensironta on toimiva työkalu puun solurakenteiden tutkimuksessa ja sen avulla on mahdollista saada tietoa puun sisältämistä selluloosamikrofibrillien orientaatiosta, kiteisen selluloosan osuudesta ja selluloosakiteiden leveydestä tuhoamatta tutkittavia näytteitä. Lisäksi laajakulmasironnalla on mahdollista saada tietoa trooppisten puulajien mahdollisesti sisältämien uuteaineiden yhdisteistä analysoimalla sirontakuvioihin syntyneitä diffraktiomaksimeja eri  $2\theta$  kulmilla ja vertaamalla niitä kiteisten uuteaineiden tunnettuihin heijastuksiin.

### 7.1 Mahdolliset jatkotutkimukset

Tulevaisuudessa tässä projektissa tutkituista puunäytteistä on tarkoitus mikrotomografian avulla ottaa poikkileikekuvia, joista voisi mahdollisesti selvittää millaisista solurakenteista röntgensironta on tapahtunut. Saadusta tomografidatasta voi lisäksi mahdollisesti määrittää solujen lukumäärätiheyksiä, tilavuuksia, ja keskimääräistä muotoa. Kiteisiä uuteaineita sisältäville puille on lisäksi mahdollista jopa tarkastella kyseisten kiteiden keskimääräistä kokoa ja muotoa. Mahdollisuuksien mukaan tutkituille puunäytteille tullaan myös tekemään sirontaa ja tomografiaa yhdistäviä mittauksia, joilla on mahdollista tutkia keskimääräistä mikrofibrillikulmaa vuosirenkaan ja jopa kevät- ja kesäpuun funktiona. Tämänkaltaisia tuloksia vaaditaan, jotta nähdään, miten mikrofibrillikulma mahdollisesti muuttuu puun sisällä ja jotta voitaisiin antaa mahdollinen keskiarvo mikrofibrillikulmalle puulajikohtaisesti. Erityisesti trooppisille lehtipuille tällaisen tutkimuksen tekeminen on tärkeää aiempien tutkimustulosten puutteessa. Kun uhanalaisille ja vaarantuneille trooppisille puulajeille saadaan määritettyä keskimääräinen

mikrofibrillikulma ja kiteisyys, voi saatujen tulosten pohjalta mahdollisesti arvioida, millä elinvoimaisilla puulajeilla on samankaltaisia ominaisuuksia, ja yrittää jatkotutkimuksen avulla selvittää, voisivatko ne osittain korvata uhanalaiset ja vaarantuneet puut joissakin käyttökohteissa. Soittimet ovat hyvä esimerkki yhdestä tällaisesta käyttökohteesta.

Tulevaisuudessa on lisäksi tarkoituksena hankkia lisää näytteitä erilaisista kasvuolosuhteista tutkittujen parametrien statistiikan parantamiseksi. Tällöin saatujen näytteiden määrästä riippuen, on myös mahdollista tehdä tutkimusta, miten mikrofibrillikulma, kiteisyys ja kidekoko mahdollisesti vaihtelevat puulajin sisällä sen kasvupaikasta riippuen.

Puunäytteissä havaittuja uuteaineita on myös aikomusta tutkia tarkemmin röntgenfluoresenssin ja jopa massaspektrometrianalyysin avulla, jolloin on mahdollista tutkia myös amorfisen muodon omaavia uuteaineita. Tällöin saadaan laajempaa tietoa kaikista puun sisältämistä uuteaineista lajikohtaisesti.

## 8. Lähteet ja kirjallisuus

- [1] E. Sjöström, Wood Chemistry: Fundamentals and Applications, San Diego: Academic Press, 1993.
- [2] "Metsäteollisuuden tilastoja," Marraskuu 2017. [Online]. Available: <https://www.metsateollisuus.fi/tilastot/>.
- [3] Forest Industries, Helmikuu 2018. [Online]. Available: <https://www.forestindustries.fi/statistics/forest-industry/>.
- [4] Botanic Gardens Conservation International, Marraskuu 2017. [Online]. Available: <https://www.bgci.org/news-and-events/news/1400/>.
- [5] The IUCN Red List of Threatened Species, Helmikuu 2018. [Online]. Available: <http://www.iucnredlist.org/>.
- [6] "Global trees Campaign," Global Trees Campaign, [Online]. Available: <http://globaltrees.org/threatened-trees/red-list/>. [Haettu Huhtikuu 2018].
- [7] "Summary Statistics," The IUCN Red List of Threatened Species, Helmikuu 2018. [Online]. Available: <http://www.iucnredlist.org/about/summary-statistics>.
- [8] S. Pimm ja L. Joppa, "How many plant species are there, where are they, and at what rate are they going extinct?," *Annals of the Missouri Botanical Garden*, osa/vuosik. 100, nro 3, pp. 170-176, 2015.
- [9] Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, Maaliskuu 2018. [Online]. Available: <https://www.cites.org/>.
- [10] "International Affairs," U.S Fish & Wildlife Service, Maaliskuu 2018. [Online]. Available: <https://www.fws.gov/international/plants/current-cites-listings-of-tree-species.html>.
- [11] "IUCN Red List," [Online]. Available: <http://discover.iucnredlist.org/search?key=dalbergia>. [Haettu Tammikuu 2018].
- [12] International Tropical Timber Organization, [Online]. Available: [http://www.itto.int/annual\\_review/](http://www.itto.int/annual_review/). [Haettu Tammikuu 2018].
- [13] H. Wenbin ja S. Xiufang, "Tropical Hardwood Flows in China," *Forest-trends*, 3 Joulukuu 2013.
- [14] H. Pretzsch, "Forest Dynamics, Growth and Yield.," Berlin, Springer, 2009, pp. 1-39.
- [15] H. C. Fritts, Tree rings and climate, University of Minnesota: Academic Press, 1976.
- [16] L. Salmén, "Micromechanical understanding of the cell-wall structure," *Comptes rendus biologies*, osa/vuosik. 327, nro 9-10, pp. 873-880, 2004.
- [17] H. Qing ja L. Mishnaevsky Jr., "Micromechanical modelling of mechanical behaviour and strength of wood: State-of-the-art review," *Computational Materials Science*, osa/vuosik. 44, nro 2, pp. 363-370, 2008.

- [18] F. Lionetto, R. Del Sole, D. Cannoletta, G. Vasapollo ja A. Maffezzoli, "Monitoring wood degradation during weathering by cellulose crystallinity," *Materials*, osa/vuosik. 5, nro 10, pp. 1910-1922, 2012.
- [19] D. Royer, L. Hickey ja Wing S.L., "Ecological conservatism in the "living fossil" Ginkgo," *Paleobiology*, osa/vuosik. 29, nro 1, pp. 84-104, 2003.
- [20] K. Fagerstedt, K. Pellinen, P. Saranpää ja T. Timonen, tekijä: *Mikä puu- mistä puusta*, Helsinki, Yliopistopaino, 1996, pp. 14-17.
- [21] "uknowledge," University of Kentucky, Joulukuu 2015. [Online]. Available: [https://uknowledge.uky.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1106&context=anr\\_reports](https://uknowledge.uky.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1106&context=anr_reports). [Haettu Huhtikuu 2018].
- [22] K. Fagerstedt, P. Saranpää, K. Pellinen ja T. Timonen, "Mikä puu- Mistä puusta," Helsinki, Yliopistopaino, 2004, pp. 14-38.
- [23] "Wikipedia," Marraskuu 2017. [Online]. Available: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Wood\\_structure\\_numbers.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Wood_structure_numbers.svg).
- [24] E. Sjöström, "The Structure of Wood," tekijä: *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications 2nd edition*, San Diego, Academic Press, 1993, pp. 1-20.
- [25] R. Alén, "Fundamental structure of wood and wood fibers," tekijä: *Papermaking Science and Technology: Biorefining of Forest Resources*, Paper Engineers' Association/Paperi ja Puu Oy, 2011, pp. 18-29.
- [26] M. Peura, M. Müller, U. Vainio, M.-P. Sarén, P. Saranpää ja R. Serimaa, "X-ray microdiffraction reveals the orientation of cellulose microfibrils and the size of cellulose crystallites in single Norway spruce tracheids," *Trees*, osa/vuosik. 22, pp. 49-61, 2008.
- [27] A. N. Fernandes, L. H. Thomas, C. M. Altaner, P. Callow, V. T. Forsyth, D. C. Apperley, C. J. Kennedy ja M. C. Jarvis, "Nanostructure of cellulose microfibrils in spruce wood," *PNAS*, osa/vuosik. 108, nro 47, p. E1195–E1203, 2011.
- [28] L. Donaldson, "Cellulose microfibril aggregates and their size variation with cell wall type," *Wood Sci. Technol.*, osa/vuosik. 41, p. 443–460, 2007.
- [29] S.-Y. Ding ja M. E. Himmel, "The Maize Primary Cell Wall Microfibril: A New Model Derived from Direct Visualization," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, osa/vuosik. 54, nro 3, p. 597–606, 2006.
- [30] H. Thomas, V. Forsyth, A. Martel, I. Grillo, C. Altaner ja M. Jarvis, "Diffraction evidence for the structure of cellulose microfibrils in bamboo, a model for grass and cereal celluloses," *BMC Plant Biology*, osa/vuosik. 15, nro 153, 2015.
- [31] R. H. Newman, S. J. Hill ja P. J. Harris, "Wide-Angle X-Ray Scattering and Solid-State Nuclear Magnetic Resonance Data Combined to Test Models for Cellulose Microfibrils in Mung Bean Cell Walls," *Plant Physiology*, osa/vuosik. 163, p. 1558–1567, 2013.
- [32] "Wikipedia," Maaliskuu 2018. [Online]. Available: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cellulose\\_Sessel.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cellulose_Sessel.svg).



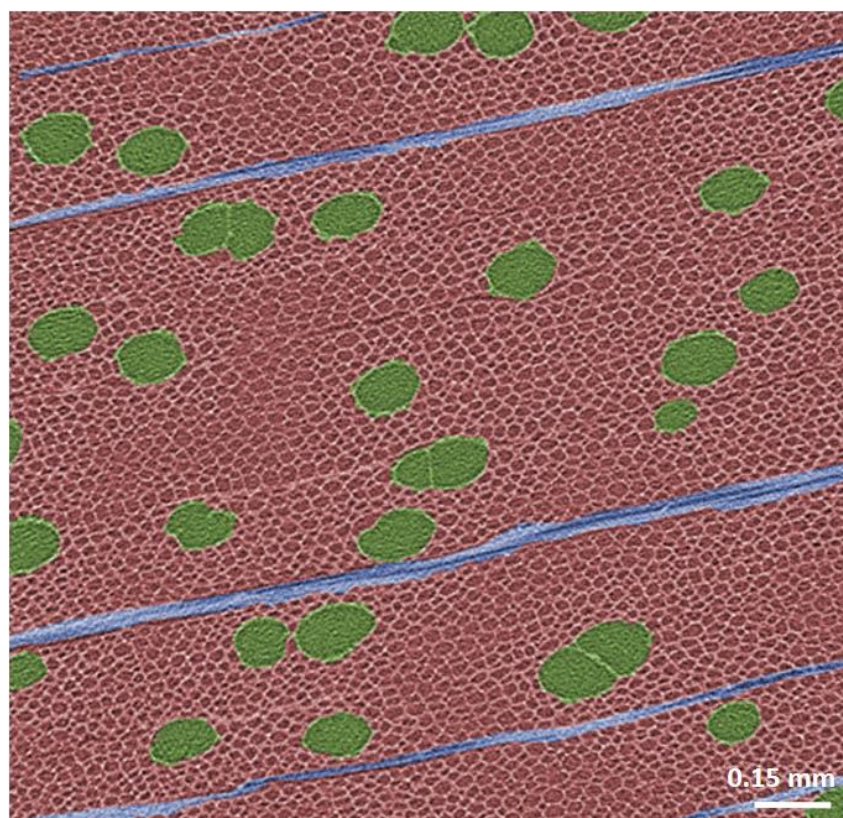
- [33] Y. Nishiyama, J. Sugiyama, H. Chanzy ja P. Langan, "Crystal Structure and Hydrogen Bonding System in Cellulose I $\alpha$  from Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction," *Journal of the American Chemical Society*, osa/vuosik. 125, nro 47, pp. 14300-14306, 2003.
- [34] Y. Nishiyama, P. Langan ja H. Chanzy, "Crystal Structure and Hydrogen-Bonding System in Cellulose I $\beta$  from Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction," *Journal of the American Chemical Society*, osa/vuosik. 124, nro 31, pp. 9074-9082, 2002.
- [35] J. Sugiyama, R. Vuong ja H. Chanzy, "Electron diffraction study on the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall," *Macromolecules*, osa/vuosik. 24, nro 14, pp. 4168-4175, 1991.
- [36] J.-L. Wertz, J. P. Mercier ja O. Bédoué, *Cellulose science and Technology*, CRC Press, 2010.
- [37] A. Hisashi, J. Ohtani ja K. Fukazawa, "Fe-Sem Observations on the Microfibrillar Orientation in the Secondary Wall of Tracheids," *IAWA Journal*, osa/vuosik. 12, nro 4, pp. 431-438, 1991.
- [38] C. Ye, "Spectroscopic imaging ellipsometry: real-time measurement of single, intact wood pulp fibers," *Applied Optics*, osa/vuosik. 45, nro 36, pp. 9092-9104, 2006.
- [39] Y. Nishiyama, "Structure and properties of the cellulose microfibril," *Journal of Wood Science*, osa/vuosik. 55, nro 4, p. 241–249, 2009.
- [40] J. Barnett ja V. A. Bonham, "Cellulose microfibril angle in the cell wall of wood fibers," *Biological Reviews*, osa/vuosik. 79, nro 2, pp. 461-472, 2004.
- [41] M.-P. Sarén, R. Serimaa, S. Andersson, T. Paakkari, P. Saranpää ja E. Pesonen, "Structural Variation of Tracheids in Norway Spruce (*Picea abies* [L.] Karst.)," *Journal of Structural Biology*, osa/vuosik. 136, pp. 101-109, 2001.
- [42] H. Jacob, P. Fratzl ja S. Tschegg, "Size and Arrangement of Elementary Cellulose Fibrils in Wood Cells: A Small-Angle X-Ray Scattering Study of *Picea abies*," *Journal of Structural Biology*, osa/vuosik. 113, pp. 13-22, 1994.
- [43] S. Andersson, R. Serimaa, M. Torkkeli, T. Paakkari, P. Saranpää ja E. Pesonen, "Microfibril angle of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] compression wood: comparison of measuring techniques," *Journal of Wood Science*, osa/vuosik. 46, nro 5, p. 343–349, 2000.
- [44] L. Donaldson, "Microfibril angle: measurement, variation and relationships: a review," *IAWA Journal*, osa/vuosik. 29, nro 04, pp. 387-396, 2008.
- [45] P. Xu, L. Donaldson, J. Walker, R. Evans ja G. Downes, "Effects of density and microfibril orientation on the vertical variation of low-stiffness wood in radiata pine butt logs," *Holzforschung*, osa/vuosik. 58, p. 673–677, 2004.
- [46] R. Nakada, Y. Fujisawa ja Y. Hirakawa, "Effects of Clonal Selection by Microfibril Angle on the Genetic Improvement of Stiffness in *Cryptomeria japonica* D. Don," *Holzforschung*, osa/vuosik. 57, p. 553–560, 2003.

- [47] R. Alén, "Chemical composition of wood," tekijä: *Papermaking Science and Technology: Biorefining of Forest Resources*, Paper Engineers' Association/Paperi ja Puu Oy, 2011, pp. 29-49.
- [48] K. V. Sarkanen ja C. H. Ludwig, *Lignins: occurrence, formation, structure and reactions*, Wiley-Interscience, 1971.
- [49] T. C. Scheffer, "Natural resistance of wood to microbial deterioration," *Annual Review of Phytopathology*, osa/vuosik. 4, nro 1, pp. 147-168, 1966.
- [50] W. E. Eslyn, J. D. Bultman ja L. Jurd, "Wood Decay Inhibition by Tropical Hardwood Extractives and Related Compounds," *Phytopathology*, osa/vuosik. 71, pp. 521-524, 1981.
- [51] M. Morimoto, H. Fukumoto, M. Hiratani, W. Chavasiri ja K. Komai, "Insect Antifeedants, Pterocarpanes and Pterocarpol, in Heartwood of *Pterocarpus macrocarpus* Kruz.," *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, osa/vuosik. 70, nro 8, pp. 1864-1868, 2006.
- [52] S. Carlquist, "Chapter 7: Cell Contents, Secretory Structures," tekijä: *Comparative Wood Anatomy: Systematic, Ecological and Evolutionary Aspects of Dicotyledon Wood*, Springer, 2001, pp. 229-252.
- [53] H. Horner, V. Raman ja I. Khan, "New and Unusual Forms of Calcium Oxalate Raphide Crystals in the Plant Kingdom," *Journal of Plant research*, osa/vuosik. 127, nro 6, pp. 721-730, 2014.
- [54] H. He, T. M. Bleby, E. J. Veneklaas, H. Lambers ja J. Kuo, "Morphologies and elemental compositions of calcium crystals in phyllodes and branchlets of *Acacia roborum* (Leguminosae: Mimosoideae)," *Annals of Botany*, osa/vuosik. 109, nro 5, pp. 887-896, 2012.
- [55] D. Fengel ja G. Wegener, "Chapter 7: Extractives," tekijä: *Wood : chemistry, ultrastructure, reactions*, Walter de Gruyter, 1983, pp. 182-222.
- [56] B. Oliver-Bever, "Medicinal plants in tropical West Africa III. Anti-infection therapy with higher plants," *Journal of ethnopharmacology*, osa/vuosik. 9, nro 1, pp. 1-83, 1983.
- [57] P. Devi, "Phytochemical and pharmacological profiling of *Dalbergia sissoo* Roxb. Stem," *Phytochemistry*, osa/vuosik. 6, nro 6, pp. 2483-2486, 2017.
- [58] C. Kittel, "Introduction to solid state physics," New York, Wiley, 1956, p. 25.
- [59] H. Brown, *Crystallographic groups of four-dimensional space*, University of California: Wiley, 1978.
- [60] J. Als-Nielsen ja D. McMorrow, "Elements of modern X-ray physics, 2nd Edition," John Wiley & Sons, 2011, pp. 150-155.
- [61] J. Als-Nielsen ja D. McMorrow, "Elements of modern X-ray physics, 2nd Edition," John Wiley & Sons, 2011, pp. 1-28.
- [62] J. Hook ja H. Hall, "Crystal Structure," tekijä: *Solid State physics, 2nd Edition*, John Wiley & Sons, 2013, pp. 2-32.
- [63] L. Liu, L. Boldon, M. Urquhart ja X. Wang, "Small and Wide Angle X-Ray Scattering Studies of Biological Macromolecules in Solution," *Journal of Visualized Experiments*, osa/vuosik. 71, 2011.

- [64] J. Als-Nielsen ja D. McMorrow, tekijä: *Elements of modern X-ray physics, 2nd Edition*, John Wiley & Sons, 2011, p. 114.
- [65] B. E. Warren, *X-ray Diffraction*, Courier Corporation, 2012.
- [66] J. Langford ja A. Wilson, "Scherrer after sixty years: A survey and some new results in the determination of crystalline size," *Journal of Applied Crystallography*, osa/vuosik. 11, nro 2, pp. 102-113, 1978.
- [67] S. Andersson, A study of the nanostructure of the cell wall of the tracheids of conifer xylem by x-ray scattering, PhD Thesis: University of Helsinki, 2006.
- [68] K. Pirkkalainen, K. Peura, K. Leppänen, A. Salmi, A. Meriläinen, P. Saranpää ja R. Serimaa, "Simultaneous X-ray diffraction and X-ray fluorescence microanalysis on secondary xylem of Norway spruce," *Wood science and technology*, osa/vuosik. 46, nro 6, pp. 1113-1125, 2012.
- [69] I. Cave, "Theory of X-ray measurement of Microfibril angle in wood," *Forest Products Journal*, osa/vuosik. 16, nro 10, pp. 37-42, 1966.
- [70] M. Rüggeberg, F. Saxe, T. H. Metzger, B. Sundberg ja P. Fratzl, "Enhanced cellulose orientation analysis in complex model plant tissues," *Journal of Structural Biology*, osa/vuosik. 183, pp. 419-428, 2013.
- [71] B. Meylan, "Measurement of microfibril angle by X-ray diffraction," *Forest Products Journal*, osa/vuosik. 17, nro 5, pp. 51-58, 1967.
- [72] P. R. Hein, B. Clair, L. Brancheriau ja G. Chaix, "Predicting Microfibril Angle in Eucalyptus Wood from Different Wood Faces and Surface Qualities Using near Infrared Spectra," *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, osa/vuosik. 8, nro 6, pp. 455-464, 2010.
- [73] P. Dixon, P. Ahvenainen, A. Aijazi, S. Chen, S. Lin, P. Augusciak, M. Borrega, K. Svedström ja L. Gibson, "Comparison of the structure and flexural properties of Moso, Guadua and Tre Gai bamboo," *Construction and Building Materials*, osa/vuosik. 90, pp. 11-17, 2015.
- [74] K. Svedström, I. Bjurhager, A. Kallonen, M. Peura ja R. Serimaa, "Structure of oak wood from the Swedish warship Vasa revealed by X-ray scattering and microtomography," *Holzforschung*, osa/vuosik. 66, nro 3, pp. 355-363, 2012.
- [75] Metsäntutkimuslaitos, 2018. [Online]. Available: <http://www.metla.fi/metinfo/puulajit/puulajinimiluettelo.htm>. [Haettu Maaliskuu 2018].
- [76] E. Meier, "The Wood Database," [Online]. Available: <http://www.wood-database.com/>. [Haettu Maaliskuu 2018].
- [77] I. Brémaud, Y. El Kaïm, D. Guibal, K. Minato, B. Thibaut ja J. Gril, "Characterisation and categorisation of the diversity in viscoelastic vibrational properties between 98 wood types," *Annals of Forest Science*, osa/vuosik. 69, nro 3, pp. 373-386, 2012.

- [78] P. Ahvenainen, "Effect of the wood material on the acoustic properties of electric guitars," 2017. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/project/Effect-of-the-wood-material-on-the-acoustic-properties-of-electric-guitars>. [Haettu Huhtikuu 2018].
- [79] C. Sterling, "Crystalline Silica in Plants," *American Journal of Botany*, osa/vuosik. 54, nro 7, pp. 840-844, 1967.
- [80] "RUFF," The RUFF project, [Online]. Available: <http://rruff.info/>. [Haettu Huhtikuu 2018].
- [81] S. Andersson, R. Serimaa, T. Väänänen, T. Paakkari, S. Jämsä ja P. Viitaniemi, "X-ray scattering studies of thermally modified Scots pine (*Pinus sylvestris* L.)," *Holzforschung*, osa/vuosik. 59, pp. 422-427, 2005.
- [82] L. Schimleck, R. Evans ja J. Ilic, "Application of Near Infrared Spectroscopy to a Diverse Range of Species Demonstrating Wide Density and Stiffness Variation," *IAWA Journal*, osa/vuosik. 22, nro 4, p. 415–429, 2001.
- [83] V. Bonham ja J. Barnett, "Fibre Length and Microfibril Angle in Silver Birch (*Betula pendula* Roth)," *Holzforschung*, osa/vuosik. 55, nro 2, p. 159–162, 2001.
- [84] S. Andersson, H. Wikberg, E. Pesonen, S. L. Maunu ja R. Serimaa, "Studies of crystallinity of Scots pine and Norway spruce cellulose," *Trees*, osa/vuosik. 18, pp. 346-353, 2004.
- [85] H. Sivonen, S. Maunu, F. Sundholm, S. Jämsä ja P. Viitaniemi, "Magnetic resonance studies of thermally modified wood," *Holzforschung*, osa/vuosik. 56, pp. 648-654, 2002.
- [86] S. Andersson, R. Serimaa, T. Paakkari, P. Saranpää ja E. Pesonen, "Crystallinity of wood and the size of cellulose crystallites in Norway spruce (*Picea abies*)," *Journal of Wood Science*, osa/vuosik. 49, pp. 531-537, 2003.
- [87] Ö. P. Çetinkol, A. M. Smith-Moritz, G. Cheng, J. Lao, A. George, K. Hong, R. Henry, B. A. Simmons, J. L. Heazlewood ja B. M. Holmes, "Structural and Chemical Characterization of Hardwood from Tree Species with Applications as Bioenergy Feedstocks," *PLoS ONE*, osa/vuosik. 7, nro 12, 2012.
- [88] H. Brown, "Chapter IX: The Minute Structure of Porous Woods," tekijä: *Textbook of Wood Technology vol. 1*, McGraw Hill Book Company Inc., 1949, pp. 193-246.
- [89] P. Ahvenainen, I. Kontro ja K. Svedström, "Comparison of sample crystallinity determination methods by X-ray diffraction for challenging cellulose I materials," *Cellulose*, osa/vuosik. 23, nro 2, p. 1073–1086, 2015.

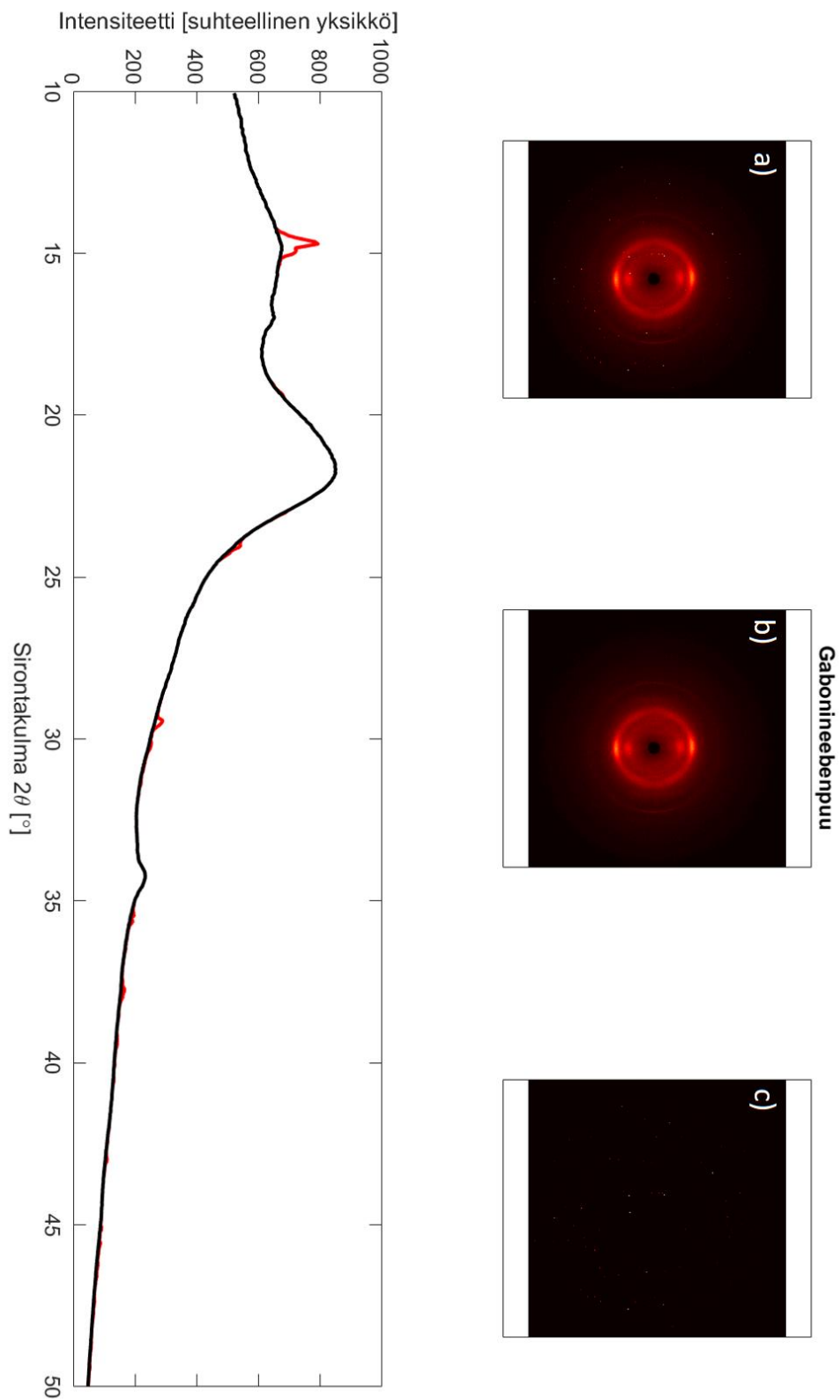
## 9. Liitteet



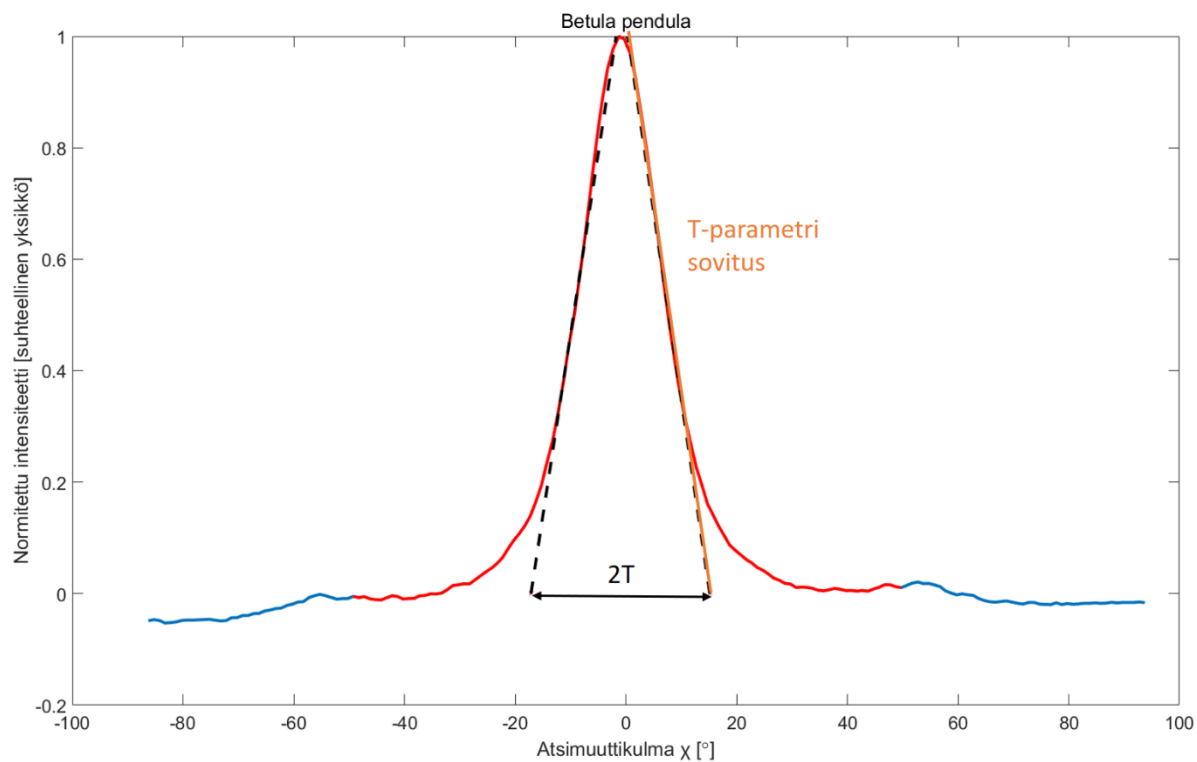
Kuva 17. Mikrotomografiakuva loimuvaahterasta (*Acer spp.*), josta värjätty selkeimmät solurakenteet. Punainen väri kuvaa kuitusolukkoa, sinisellä näkyvät ydinsäteet ja vihreällä putkilosoluja, joita esiintyy vain lehtipuiden solurakenteessa. Vaahtera kuuluu hajaputkiloiisiin lehtipuihin, joka näkyy putkilosolujen tasaisesta levittämisestä puun solukossa.

Kasvualue	Kasvitieteellinen nimi	Suom. kielinen nimi	Eng. Kielinen nimi	Tiheys (kg/m <sup>3</sup> )	Elastinen kerroin (GPa)
Lauhkean vyöhykkeen	<i>Picea spp.</i>	Kuusi	Spruce	405	9.7
Havupuut	<i>Picea engelmannii</i>	Engelmanninkuusi	Engelman spruce	385	9.44
	<i>Pinus ponderosa</i>	Keltamänty	Ponderosa pine	450	8.90
	<i>Pinus sylvestris</i>	Mänty	Pine	550	10.08
	<i>Thuja plicata</i>	Jättituija	Red cedar	370	7.66
Lauhkean vyöhykkeen Lehtipuut	<i>Acer pseudoplatanus</i>	Vuorivaahtera	Sycamore (maple)	615	9.92
	<i>Acer saccharinum</i>	Hopeavaahtera	Silver maple	530	7.86
	<i>Acer saccharum</i>	Sokerivaahtera	Sugar maple	705	12.62
	<i>Alnus glutinosa</i>	Tervaleppä	Alder	495	8.99
	<i>Betula alleghaniensis</i>	Keltakoivu	Yellow birch	690	13.86
	<i>Betula pendula</i>	Rauduskoivu	Silver birch	640	13.96
	<i>Fraxinus excelsior</i>	Saarni	Ash	680	12.31
	<i>Populus tremula</i>	Haapa	Aspen	450	9.75
	<i>Quercus robur</i>	Tammi	Oak	675	97.1
	<i>Ulmus procera</i>	Jalava	Elm	565	7.12
Trooppisen ja subtrooppisen vyöhykkeen Lehtipuut	<i>Dalbergia latifolia</i>	Intianpali-santeri	Indian rosewood	830	11.50
	<i>Dalbergia nigra</i>	Brasilianpali-santeri	Brazilian rosewood	835	13.93
	<i>Diospyros celebica</i>	Celebesin-eebenpuu	Amara ebony	1120	17.35
	<i>Diospyros crassiflora</i>	Gabonin-eebenpuu	Gaboon ebony	955	16.89
	<i>Entandrophragma cylindricum</i>	Sapelemahonki	Sapele	670	12.04
	<i>Guibortia tessmannii</i>	Kopaalipuu	Bubinga	890	18.41
	<i>Pterocarpus spp.</i>	Veripihkapuu	Padauk	745	11.72
	<i>Swietenia macrophylla</i>	Amerikanaito-mahonki	Honduran mahogany	590	10.06

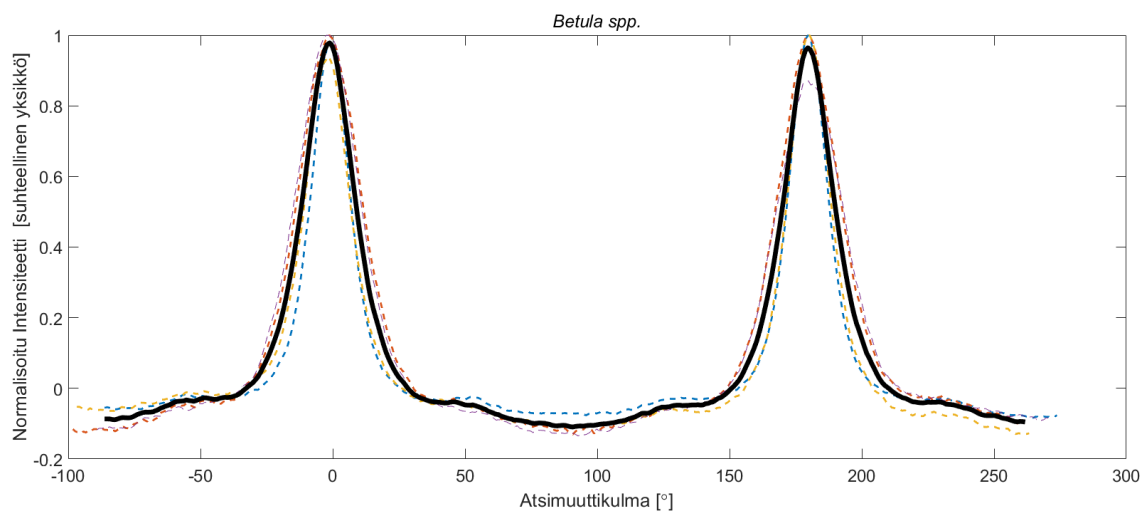
Taulukko 1. Lista tutkituista puulajeista. Lajikohtaiset lukuarvot tiheydelle ja elastisille kertoimille lainattu lähteistä [76] ja [77].



Kuva 18. Gabonineebenpuun sirontakuvio a) ennen ja b) jälkeen pisteiden poistamisen. Kuvaajassa alla esitetty käsitellyn datan (mustalla) intensiteetti sirontakulman funktiona, josta vähennetty punaisella merkityt piikit. Alkuperäinen mittausdata sisälsi c) punaisella merkityt piikit, jotka vastaavat muusta kiteisestä materiaalista siroannutta intensiteettiä.

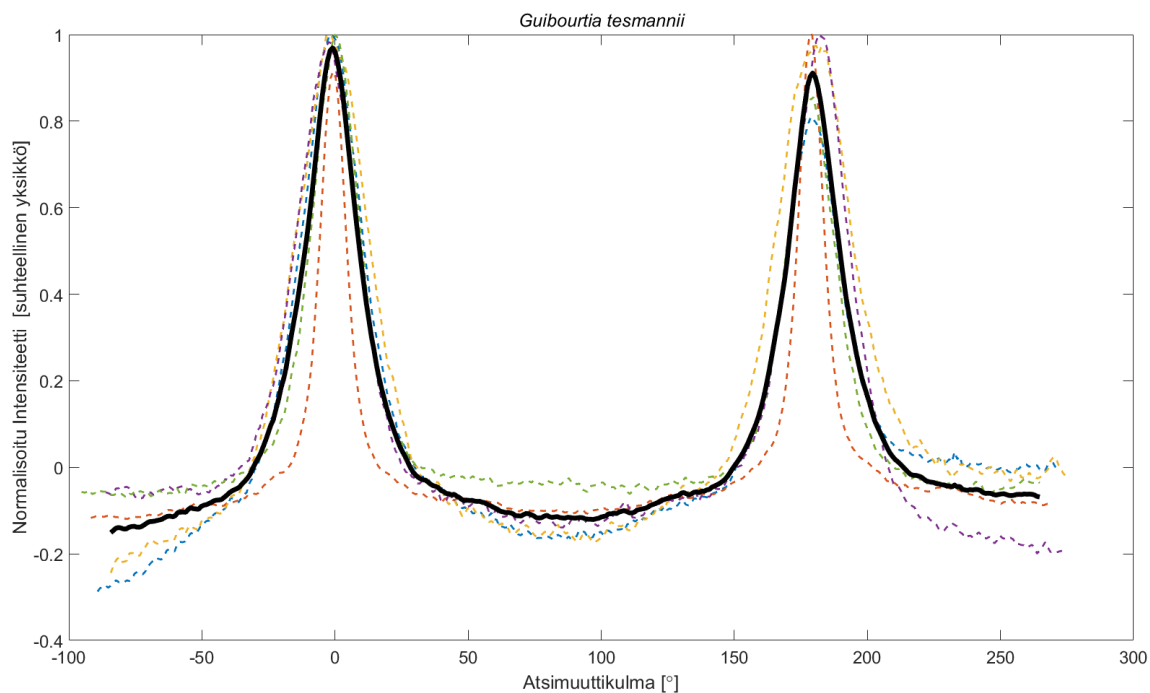


Kuva 19. Koivunäytteelle tehty T-parametrisovitus mikrofibrillikulman laskemiseksi.

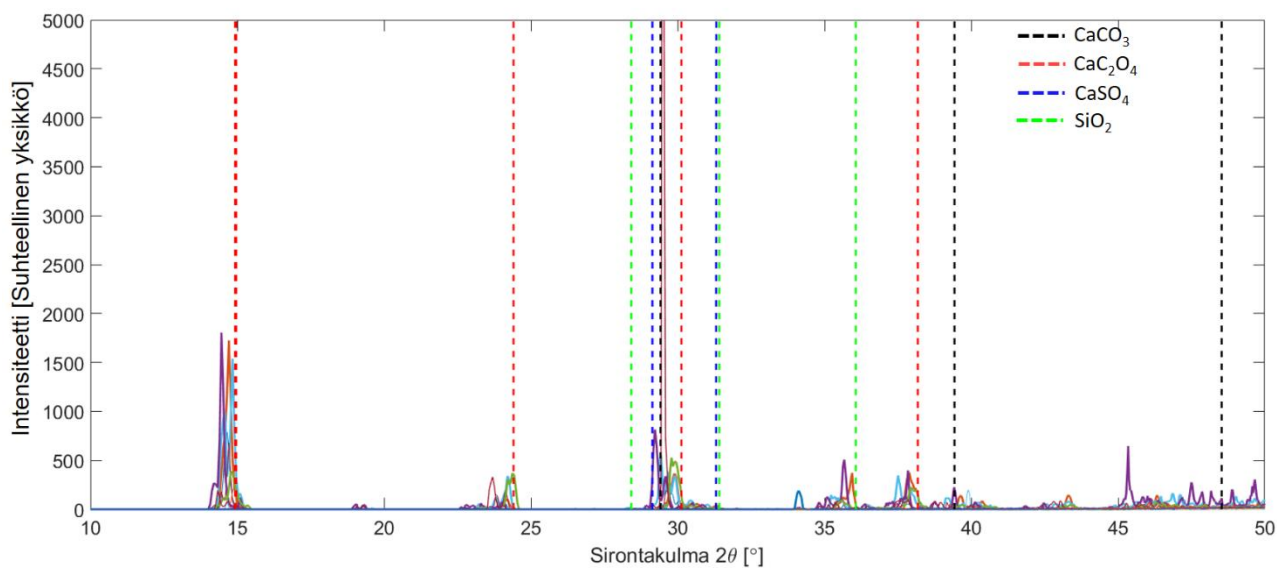


Kuva 20. Koivun (*Betula spp.*) keskiarvoatsimuuttikuvaaja (mustalla) ja näytekohtaiset atsimuuttikuvaajat (katkoviivoin).

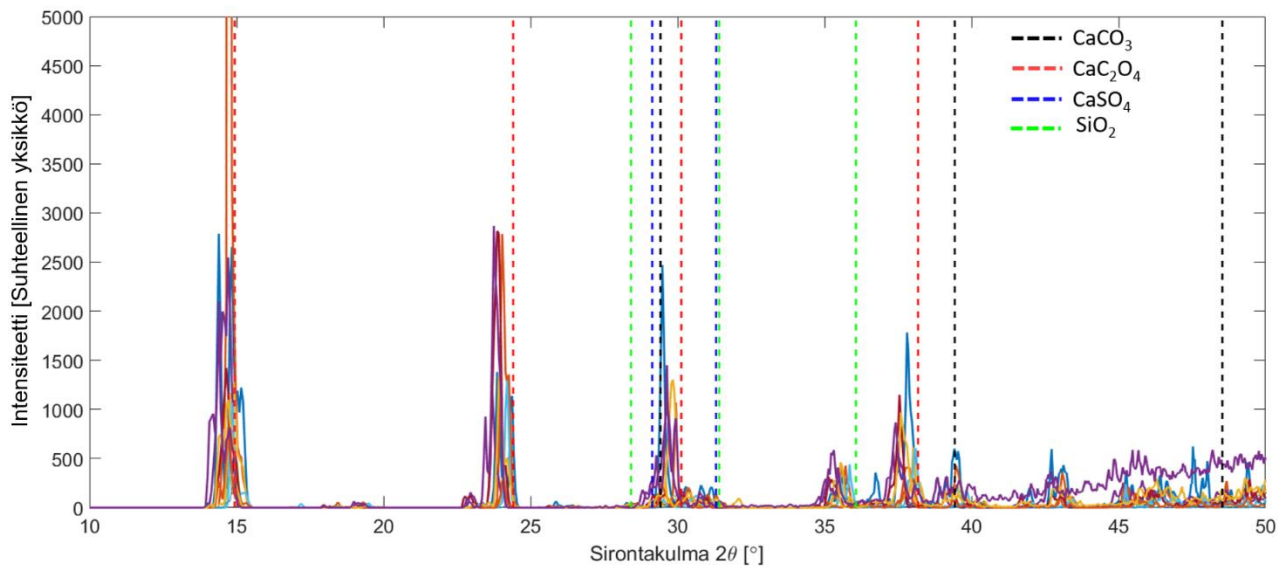




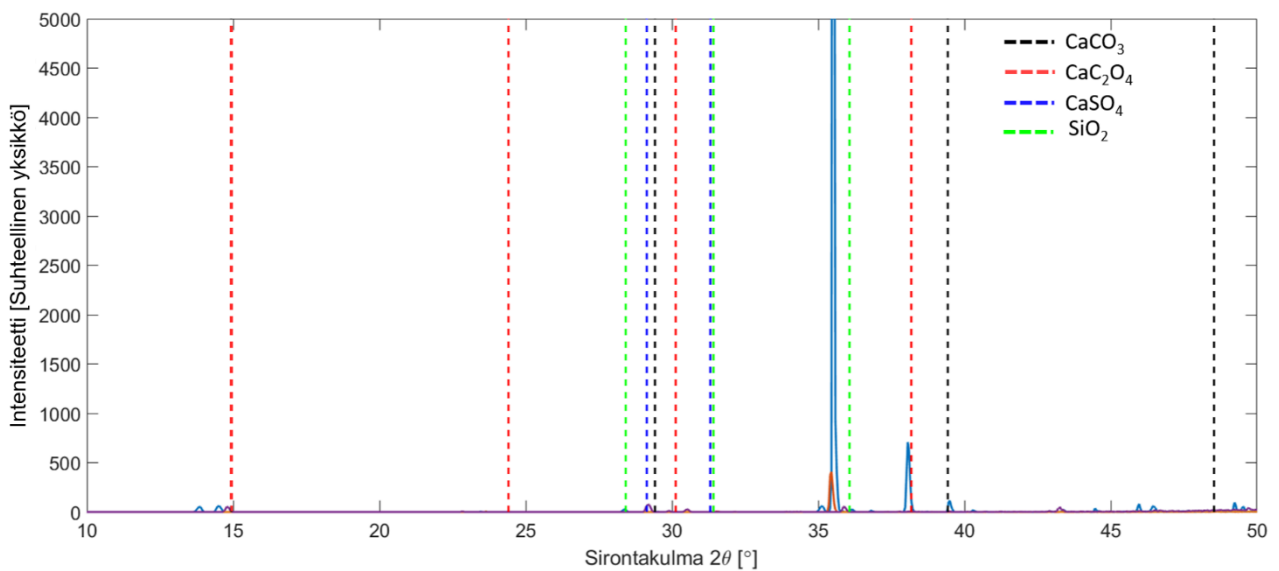
Kuva 21. Kopaalipuun (*Guibourtia tessmannii*) keskiarvoatsimuuttikuvaaja (mustalla) ja näytekohtaiset atsimuuttikuvaajat (katkoviivoin).



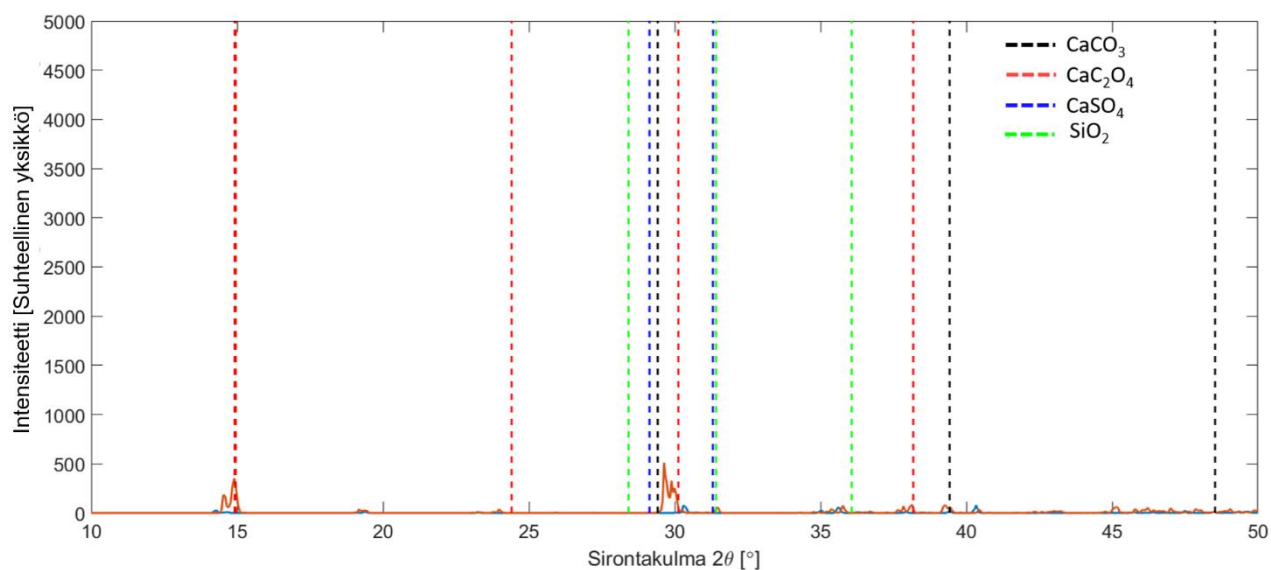
Kuva 22. Palisanteri-puunäytteiden (*Dalbergia spp.*) uuteainekuuvajat. Kuvaajan alareunassa puunäytteiden sirontakuvaajista poistettuja ylimääräisiä heijastuksia merkitty eri värein ja tunnettuja kiteisten uuteainien heijastuskulmia katkoviivoin.



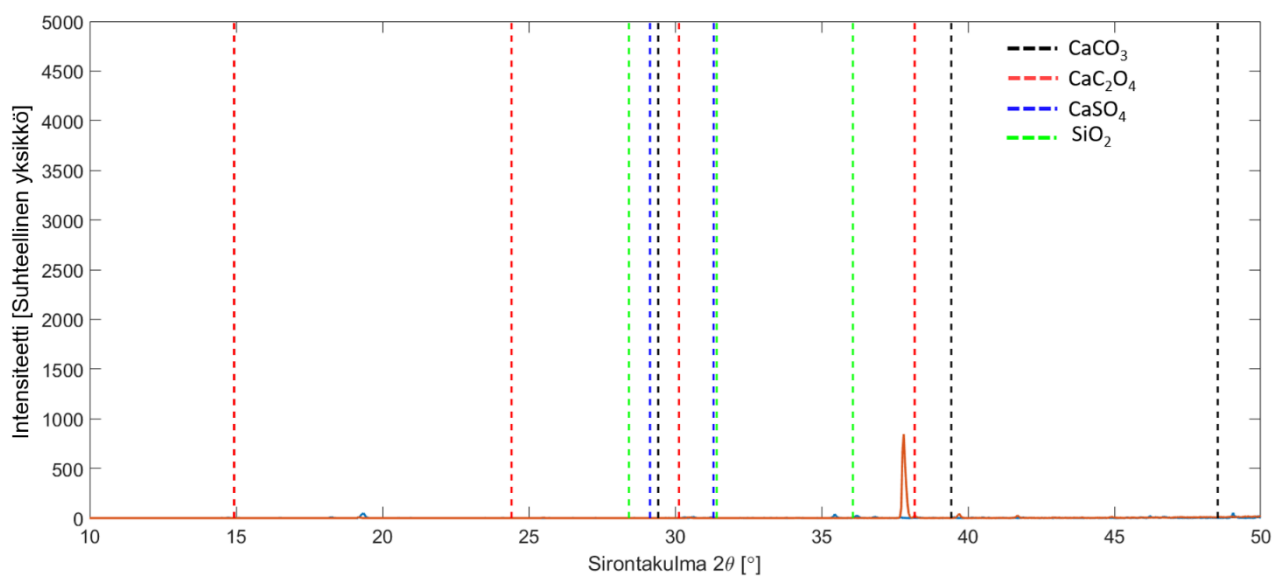
Kuva 23. Eebenpuu-puunäytteiden (*Diospyros spp.*) uuteainekuuvajat. Kuvaajan alareunassa puunäytteiden sirontakuvaajista poistettuja ylimääräisiä heijastuksia merkitty eri värein ja tunnettuja kiteisten uuteaineiden heijastuskulmia katkoviivoin.



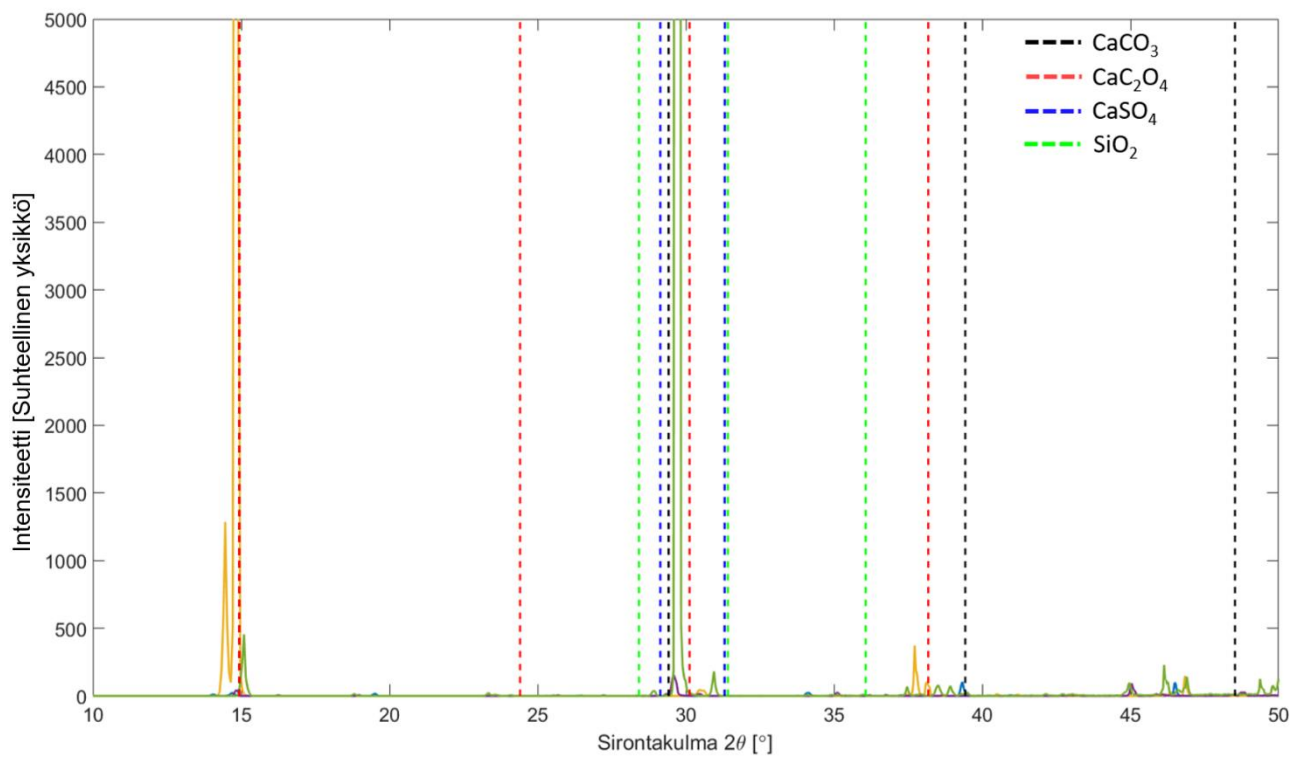
Kuva 24. Kopaalipuu-puunäytteiden (*Guibourtia tessmannii*) uuteainekuuvaja. Kuvaajan alareunassa puunäytteiden sirontakuvaajista poistettuja ylimääräisiä heijastuksia merkitty eri värein ja tunnettuja kiteisten uuteaineiden heijastuskulmia katkoviivoin.



Kuva 25. Veripihkapuu-puunäytteiden (*Pterocarpus spp.*) uuteainekuuvajat. Kuvaajan alareunassa puunäytteiden sirontakuvaajista poistettuja ylimääräisiä heijastuksia merkitty eri värein ja tunnettuja kiteisten uuteaineiden heijastuskulmia katkoviivoin.



Kuva 26. Sapelemahonki-puunäytteiden (*Entandrophragma cylindricum*) uuteainekuuvajat. Kuvaajan alareunassa puunäytteiden sirontakuvaajista poistettuja ylimääräisiä heijastuksia merkitty eri värein ja tunnettuja kiteisten uuteaineiden heijastuskulmia katkoviivoin.



Kuva 27. Amerikanaitomahonki-puunäytteiden (*Swietenia macrophylla*) uuteainekuuvajat. Kuvaajan alareunassa puunäytteiden sirontakuvaajista poistettuja ylimääräisiä heijastuksia merkitty eri värein ja tunnettuja kiteisten uuteaineiden heijastuskulmia katkoviivoin.